This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

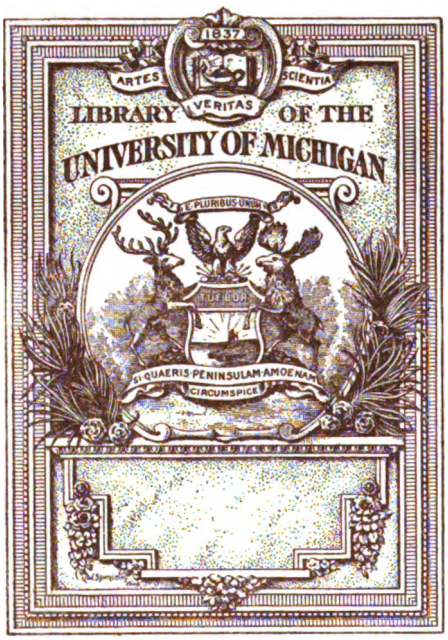
+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

BUHR B
a39015 00010898 8b

Digitized by Google



Digitized by Google

SCIENCE LIBRARY
QK
1
.R454

Digitized by Google

Digitized by Google

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

Digitized by Google

LE BIGOT FRÈRES, IMPRIMEURS.

Digitized by Google

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

DIRIGÉE PAR

M. Gaston BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT,

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA SORBONNE

TOME SEIZIÈME

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

1, RUE DANTE, 1

—

1904

Digitized by Google

Digitized by Google

SUR UN HYBRIDE DE GREFFE
ENTRE POIRIER ET COIGNASSIER

par M. Lucien DANIEL

On sait que, en arboriculture, il arrive souvent que les arbres fruitiers de nos jardins dépérissent et meurent à la suite de l'âge ou des maladies. Mais ce dépérissement se manifeste tout d'abord aux extrémités les plus éloignées du sol ; c'est le phénomène désigné sous le nom de *couronnement*. Ces arbres peuvent parfois être *restaurés*, c'est-à-dire qu'on peut les reconstituer en partie avec des pousses nouvelles provoquées par l'amputation de tout ou partie de l'appareil végétatif aérien.

Tantôt on ne fait que tailler les branches charpentières à

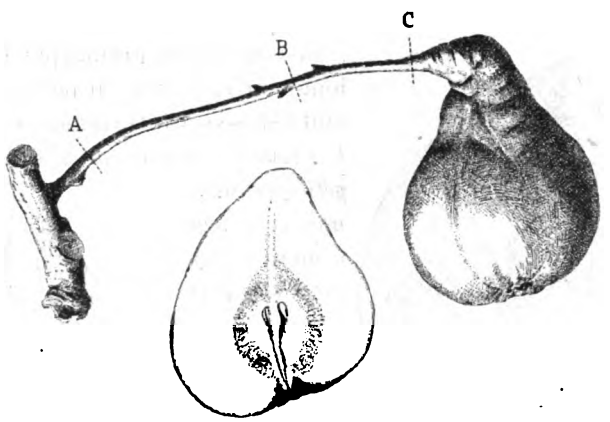


Fig. 1. — Poires monstrueuses du jardin de Saint-Vincent, à Rennes.

quelque distance de la tige principale : c'est l'opération désignée sous le nom de *rapprochement*. Tantôt on coupe ces branches au ras du tronc et l'on coupe celui-ci à un mètre ou plus au-dessus du tronc : c'est alors le *ravalement*. Tantôt enfin on coupe le tronc entier à peu de distance du collet : c'est le *recépage*.

Ces opérations, en détruisant l'équilibre entre l'absorption *Ca* et

135020

Digitized by Google

la consommation *Cv* du moment, produisent un bourgeonnement intense de la partie opérée, et même parfois des pousses se produisent sur le sujet.

A la suite de *ravalements* effectués sur de nombreux poiriers, dans le jardin de St-Vincent, à Rennes, le frère Henri, professeur d'arboriculture de l'établissement, remarqua des productions monstrueuses qu'il m'invita à étudier. Des bourgeons à fleurs avaient percé l'écorce épaisse, puis ils avaient fleuri et fructifié dans l'année même. Les poires ainsi produites avaient une forme très différente de la variété ordinaire et elles étaient portées par un véritable rameau, présentant diverses anomalies parmi lesquelles un renversement des bourgeons voisins du fruit (fig. 1).

Un seul exemplaire des Poiriers ravalés donna des pousses sur le sujet. Deux d'entre elles, situées à 20 centimètres au-dessous du bourrelet, avaient l'aspect ordinaire des pousses de Coignassier et des feuilles d'apparence normale, quoique plus petites. Ces dimensions moindres n'avaient rien de surprenant, les pousses étant peu vigoureuses.

Pour préciser, je rappelerai que leur épiderme noirâtre était velu dans la plus grande partie de leur longueur et présentait peu ou point de lenticelles suivant la région considérée. Les feuilles étaient *entières, courtement pétiolées*, de forme *ovale*, légèrement *cordiformes*, *à peine acuminées*, et plus ou moins *blanchâtres* sur leur face inférieure tomenteuse. Ces feuilles (fig. 3), ne différaient de la feuille normale (fig. 2), que par leur taille plus petite.

Fig. 2. — Feuille normale de Coignassier.

Fig. 3. — Feuille du Poirier du jardin de Saint-Vincent. sur pousse ayant l'aspect d'une pousse de Coignassier.

Trois autres pousses, plus vigoureuses, étaient apparues au niveau même du bourrelet, sur l'écorce noirâtre du Coignassier

Digitized by Google

sujet. Elles présentaient un aspect particulier qui attirait immédiatement l'attention. Au lieu de présenter le port grêle et légèrement sinueux du Coignassier, elles étaient plus rectilignes, plus massives et rappelaient beaucoup la disposition et la forme du Poirier Williams servant de greffon. L'épiderme moins velu était aussi moins noir et présentait des lenticelles plus nombreuses et, par ces caractères se rapprochait du greffon. Les feuilles, disposées comme dans le Poirier, différaient à la fois de la feuille normale du poirier (fig. 4), et de celle du Coignassier (fig. 2). L'on sait que la feuille du Poirier est *glabre* à l'âge adulte, régulièrement *dentée*, fortement *acuminée*, *lancéolée* et *allongée*.

Les feuilles que portaient ces trois rameaux présentaient des caractères *plus ou moins intermédiaires* entre les feuilles du sujet et celles du greffon, ainsi que le font voir facilement les figures 5 et 6.

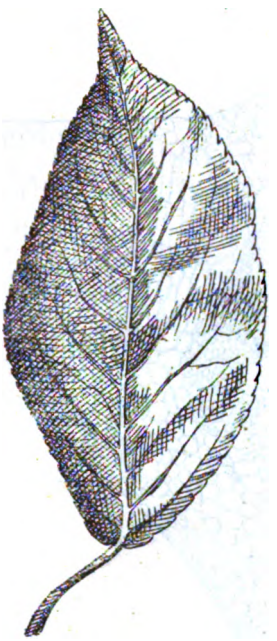


Fig. 4. — Feuille normale du Poirier Williams.

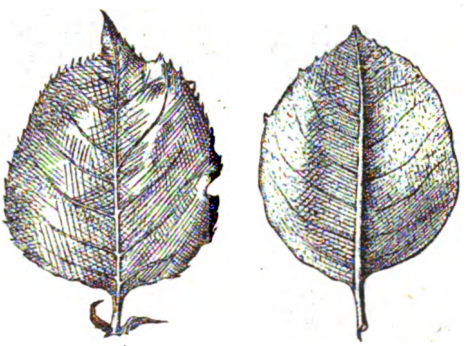


Fig. 5 et 6. — Feuilles du Poirier du jardin de Saint-Vincent sur pousses ayant l'aspect de celles du Poirier.

Elles étaient ovales comme celles du Coignassier, moins velues mais cependant pourvues de poils ; quelques-unes étaient fortement acuminées, et présentaient des dents irrégulièrement disposées ; au lieu d'être cordiformes, elles étaient lancéolées au voisinage du pétiole comme dans le Poirier.

Ce mélange des caractères extérieurs du sujet et du greffon dans les trois pousses nées sur le bourrelet, quand le greffon et le sujet

Digitized by Google

portaient des rameaux normaux, montrent bien déjà que l'on se trouve en présence d'un hybride de greffe tel que je les ai définis (1), et non en présence d'un Coignassier ou d'un Poirier de semis accidentellement hybridé.

J'ai voulu voir, en outre, si les caractères internes étaient eux-

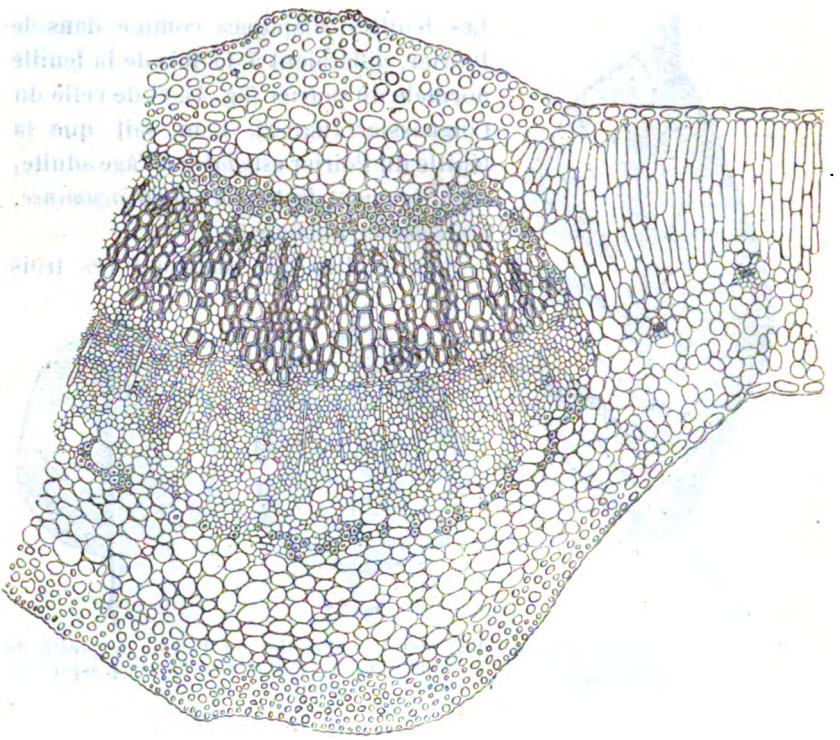


Fig. 7. — Coupe transversale d'une feuille de Poirier Williams.

mêmes modifiés et dans quel sens. J'ai étudié seulement la structure des feuilles, car désirant multiplier ultérieurement cet hybride par le bouturage et la greffe, je ne pouvais sacrifier aucune partie de ses pousses.

J'ai choisi sur le greffon et sur le Coignassier ayant fourni le

(1 Voir : *Les variations spécifiques dans le greffage* (Congrès de Lyon, 15-17 novembre 1901).

Digitized by Google

sujet des rameaux de même vigueur et de même orientation que les rameaux de l'hybride; j'ai pris des feuilles situées au même niveau sur chacun, de façon à obtenir des organes aussi comparables que possible. J'ai fait passer mes coupes transversales dans des régions semblables sur chaque feuille. Ce sont ces coupes,

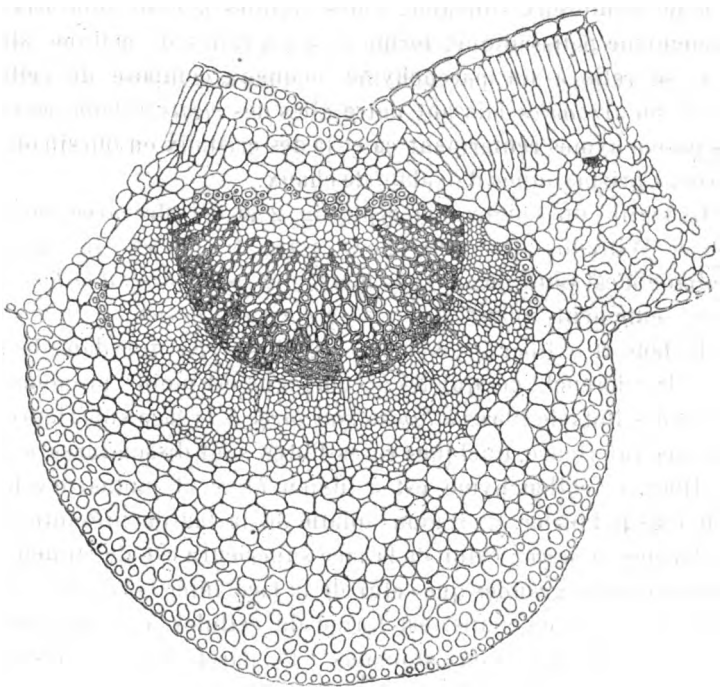


Fig. 8.— Coupe transversale d'une feuille de Coignassier.

ainsi établies, que je vais comparer ici : cette étude est la première qui ait été faite dans les hybrides de greffe, au point de vue de la feuille (1).

La feuille du Poirier Williams (fig. 4 et 7), présente une nervure médiane nettement *biconvexe*; la face inférieure est plus bombée que la face supérieure. Elle est formée de bois et de liber en arc très ouvert, entouré d'un sclérenchyme bien developpé. Les fibres

(1) J'ai donné quelques indications sur l'anatomie de la tige des hybrides de greffe dans mes mémoires sur la *Variation dans la greffe* et sur la *Théorie des capacités fonctionnelles*.

Digitized by Google

scléreuses sont en ilots de 2 à 3 rangs à la face inférieure; elles forment une bande continue de 3 à 4 rangs à la face supérieure. Le collenchyme, bien developpé, présente des cellules à *lumen assez étroit*, surtout au voisinage des épidermes. La région aplatie de la feuille est formée par deux épidermes supérieur et inférieur de dimensions sensiblement *égales*. Vu de face, l'épiderme inférieur, garni de nombreux stomates, a des cellules *à peine sinueuses*. Le parenchyme palissadique, formé de 3 à 4 rangs de cellules allongées, se relie à un parenchyme lacuneux composé de cellules *ovoïdes* ou *arrondies* laissant entre elles des *méats de faible étendue*. Ces parenchymes renferment çà et là des cristaux en oursin ou des cristaux prismatiques d'oxalate de chaux.

La feuille du Coignassier type (fig. 2 et 8), offre avec celle du Poirier Williams des différences assez tranchées. La nervure médiane n'est plus biconvexe, mais elle est *bombée à la face inférieure* seulement, quand *la face supérieure est concave*.

Le bois et le liber forment un arc plus fermé que dans le Poirier ; le sclérenchyme qui les accompagne est moins prononcé ; il forme des ilots de fibres à *lumen plus large* à la face supérieure, et, à la face inférieure, quelques rares fibres sont disséminées autour du liber. Le collenchyme est à lumen *large* et moins développé que dans le Poirier. La région aplatie de la feuille présente deux épidermes *inégaux* ; celui de la face supérieure est de dimensions beaucoup plus grandes que celui de la face inférieure ; ce dernier vu de face, non en coupe, est formé de cellules à membanes *très sinueuses* avec nombreux stomates : Le parenchyme palissadique comprend 3 à 4 rangs de cellules allongées auxquelles fait suite un parenchyme lacuneux à cellules irrégulièrement *rameuses*, laissant entre elles des *méats nombreux et étendus*. Les cristaux en prisme et en oursin sont plus fréquents que dans la feuille du Poirier et présente en général une répartition légèrement différente.

Si l'on considère maintenant la coupe transversale de la feuille de l'hybride de greffe (fig. 5 et 9), on voit qu'elle présente, mélangés à des degrés divers, des caractères anatomiques de la feuille du Poirier et de la feuille du Coignassier. Ainsi la nervure médiane est *biconvexe*, l'arc libéroligneux *ouvert*, le sclérenchyme en *bande* à la face supérieure, comme dans le Poirier ; les épidermes sont de *taille différente*, celui de la face inférieure, vu de face, est à

Digitized by Google

membrane *sinueuse* et porte des poils comme dans le Coignassier. Les parenchymes, et en particulier le parenchyme lacuneux, le collenchyme, les cristaux présentent des caractères plus ou moins *intermédiaires* entre les caractères correspondants du Poirier et du Coignassier. Le mélange des caractères observé dans la morphologie externe se retrouve donc dans la morphologie interne, ce qui était en somme à prévoir.

J'ai voulu me rendre compte si la feuille des rameaux du sujet non modifiés extérieurement avait conservé intégralement les

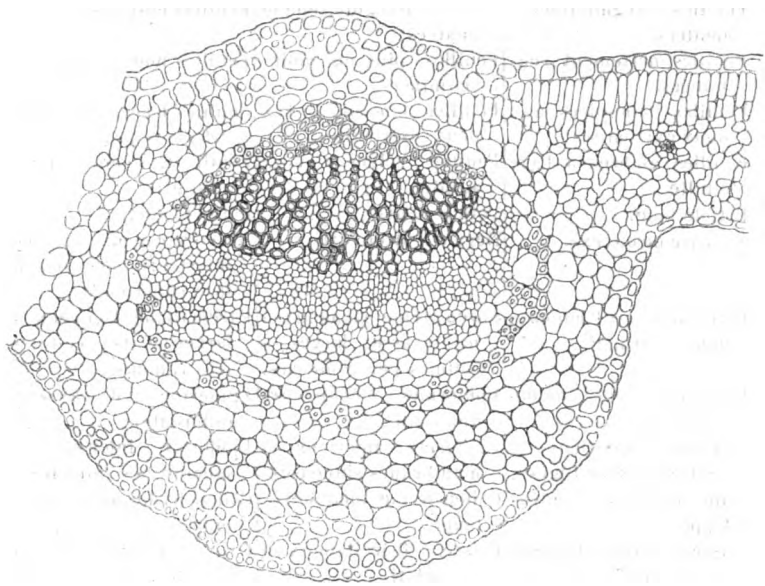


Fig. 9. — Coupe transversale d'une feuille de l'hybride de greffe.

caractères du Coignassier type. Une feuille, choisie dans les mêmes conditions que les précédentes, a donné en coupe transversale une structure semblable, à part des différences de dimensions provenant de l'inégal développement de la feuille, à celle du Coignassier. Cependant la nervure médiane présentait des fibres scléreuses en bande rappelant la forme et la disposition de celles du Poirier.

Le tableau suivant permet de résumer les ressemblances et les différences :

Digitized by Google

POIRIER WILLIAMS GREFFON	HYBRIDE DE GREFFE	COIGNASSIER SUJET
Rameau érigé épais.	Rameau érigé épais.	Rameau sinueux, grêle.
Epiderme vert brun.	Epiderme vert brun noirâtre.	Epiderme vert noirâtre.
Lenticelles nombreuses.	Lenticelles assez nombreuses.	Lenticelles peu nombreuses.
Poils caducs de bonne heure.	Poils persistant en partie.	Poils la plupart persistants.
Feuilles beaucoup plus longues que larges.	Feuilles presque aussi larges que longues.	Feuilles presque aussi larges que longues.
Feuilles régulièrement dentées.	Feuilles irrégulièrement dentées.	Feuilles entières.
Feuilles nettement acuminées.	Feuilles plus ou moins acuminées.	Feuilles non acuminées.
Feuilles lancéolées aux deux extrémités.	Feuilles lancéolées aux deux extrémités.	Feuilles légèrement cordiformes à la base.
Feuilles glabres à l'âge adulte.	Feuilles velues à l'âge adulte.	Feuilles très velues à l'âge adulte
Pétiole long.	Pétiole court.	Pétiole court.
Nervure biconvexe.	Nervure biconvexe.	Nervure convexe à la face inférieure, concave à la face supérieuee.
Parenchyme lacuneux, dense, arrondi.	Parenchyme lacuneux à méats assez larges, à cellules peu rameuses.	Parenchyme lacuneux à larges méats et cellules très rameuses.
Epidermes de même épaisseur.	Epidermes d'épaisseurs différentes.	Epidermes d'épaisseur différente.
Epiderme inférieur à membranes rectilignes.	Epiderme inférieur à membranes sinueuses	Epiderme inférieur à membranes sinueuses.
Collenchyme très développé.	Collenchyme bien développé.	Collenchyme assez développé.
Faisceau libéroligneux en arc aplati.	Faisceau libéroligneux en arc aplati.	Faisceau libéroligneux en arc plus fermé.
Cristaux peu nombreux.	Cristaux assez nombreux.	Cristaux nombreux.

CONCLUSIONS

De cette étude, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° La production de rameaux plus ou moins intermédiaires entre le sujet et le greffon dans une greffe de Poirier sur Coignassier est une preuve de plus de l'existence de l'hybridation par la greffe. Cette preuve est *irréfutabbe*, puisque la variation obtenue peut être

Digitized by Google

facilement contrôlée. Elle s'ajoute aux exemples classiques du *Cytisus Adami*, du Néflier de Bronvaux, de mes plantes herbacées et à ceux qui ont été décrits plus récemment dans la Vigne, etc.

2° L'apparition de l'hybride de greffe après ravalement sur des arbres âgés, greffés depuis longtemps, justifie l'opinion que j'exprimais au Congrès de Lyon sur la rareté relative des observations de ce genre dans les Rosacées, bien qu'on greffe ces plantes depuis longtemps. On supprime avec soin les pousses du sujet dans les greffes ordinaires et l'on se prive ainsi volontairement des parties les plus sensibles à la variation. L'on peut aussi se dire que la durée de la symbiose a une influence sur l'apparition de ces hybrides de greffe dans les plantes ligneuses. Le Néflier de Bronvaux est vieux, plus vieux que les Poiriers de St-Vincent. C'est là une considération dont l'expérience seule peut démontrer la justesse ou la fausseté.

3° La juxtaposition ou la fusion des caractères que l'on observe simultanément dans la morphologie externe se retrouvent aussi dans la morphologie interne, ainsi que le démontre bien nettement l'examen microscopique des feuilles. A côté de caractères *juxtaposés* comme la nature des épidermes (forme et accidents de la surface), la nature de la nervure (forme, structure), on observe des caractères plus ou moins *fusionnés* comme la nature du parenchyme lacuneux, par exemple.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par M. J. LAURENT.

INTRODUCTION

Il est peu de questions qui aient été aussi controversées que le rôle des matières organiques dans la nutrition des plantes vertes. Sans doute les anciens, ne soupçonnant pas l'influence de la chlorophylle dans l'assimilation du carbone, n'ont pas manqué d'attribuer à l'humus une action prépondérante dans l'alimentation carbonée de ces végétaux. Mais après la découverte de Bonnet et de Priestley, après les travaux de Sénebier, Th. de Saussure et des physiologistes modernes, la fonction chlorophyllienne domine toute la physiologie végétale, et il est admis par la plupart des botanistes que la plante verte trouve dans l'atmosphère la totalité du carbone qui lui est nécessaire.

Ces idées avaient d'autant plus de chances d'être acceptées qu'elles permettaient une conception très simple du règne végétal dans ses relations avec les animaux et avec le monde inorganique. Empruntant toute leur nourriture à la matière brute, les plantes réalisaient la synthèse des substances organiques qui servaient à l'alimentation des animaux pour être ramenées ensuite par eux sous une forme simple, minérale: eau, gaz carbonique, ammoniaque. Travail de synthèse chez la plante, d'analyse chez l'animal, telle était la formule séduisante à laquelle paraissaient conduire

Digitized by Google

les remarquables travaux scientifiques de la première moitié du dix-neuvième siècle. C'est à peine si quelques agronomes étaient restés fidèles à l'ancienne théorie de l'humus, et il faut arriver jusqu'à ces dernières années pour voir soulever de nouveau cette question que l'on avait pu croire un instant définitivement résolue.

Par des méthodes indirectes, divers auteurs ont montré récemment que dans certains cas particuliers le sucre de canne, la glycérine et peut-être aussi l'acide humique sont utilisés par les Algues ou même par les Phanérogames pour la formation de réserves ou pour la croissance du végétal. Je me suis proposé dans ce travail de coordonner ces premiers résultats et d'établir directement : 1° l'absorption, par les racines, de diverses substances organiques ; 2° leur utilisation par la plante.

M. Gaston Bonnier a bien voulu me guider de ses précieux conseils dans ces recherches ; je lui en exprime ici toute ma reconnaissance. Je dois à la bienveillance de M. le Dr Henrot, Directeur de l'École de médecine de Reims d'avoir pu disposer, pour mes recherches personnelles, d'un petit laboratoire qui m'a rendu les plus grands services et il n'ignore pas que mes sentiments de gratitude lui sont entièrement acquis ; j'ai trouvé d'autre part une partie du matériel nécessaire à ce genre de travaux dans les ressources du laboratoire de bactériologie que dirige M. Cordier, et son aide, M. Durand, s'est mis à ma disposition avec le plus gracieux empressement, pour la stérilisation à l'autoclave des liqueurs de culture ; je les prie d'agréer mes sincères remercîments.

HISTORIQUE

Quoique les résultats des expériences anciennes aient été déjà résumés par Déhérain dans l'Encyclopédie chimique (1), il ne sera peut-être pas inutile de mettre en évidence les contradictions qu'elles présentent et d'y joindre un exposé des recherches entreprises récemment dans la même voie.

(1) P. P. Déhérain : *Chimie agricole, nutrition de la plante.* Encyclopédie chimique, t. X, p. 53 à 59.

Digitized by Google

Dans ses « *Recherches chimiques sur la végétation* » (1), Th. de Saussure, étudiant l'absorption des matières solubles par les racines, avait placé des pieds de Persicaire (*Polygonum Persicaria*, Lin.) et de *Bidens cannabina* (2) pourvus de racines dans une solution formée de 40 pouces cubes d'eau distillée (793 cmc.) et 12 grains (637 mmgr.) de sucre. Quand les plantes eurent absorbé la moitié du liquide, l'analyse montra que la quantité de sucre disparu était de 29 pour cent dans le cas de la Persicaire, et de 32 pour cent pour le *Bidens*. Dès lors généralisant le fait et l'étendant aux substances organiques solubles, l'auteur admit que les matières ulmiques du sol servent directement à l'alimentation des plantes. C'était d'ailleurs l'opinion de tous les anciens et celle qu'enseignaient alors Mathieu de Dombasle et tous les agronomes de l'époque.

Liebig (3) remarque que « l'acide ulmique devient insoluble » quand il a été desséché à l'air, ou lorsque l'eau qu'il renferme se » congèle. Le froid de l'hiver, les chaleurs de l'été privent donc » l'acide ulmique de sa solubilité et le rendent ainsi impropre à » l'absorption et par conséquent à l'assimilation ».

Si la chaux et les alcalis facilitent sa dissolution, la quantité d'acide ulmique qui pourrait pénétrer dans les tissus de la plante ne fournirait qu'une fraction insignifiante du poids total de carbone asssimilé. En admettant que toutes les bases contenues dans les cendres aient été absorbées à l'état d'ulmates aussi solubles que l'ulmate de calcium, le calcul montre que 2500 mètres carrés de forêt donnant par an 1325 kilogr. de bois de sapin ne pourraient absorber que 82 kilogr. de carbone sous forme d'acide ulmique. D'autre part, 2500 mètres carrés de terrain recevant 350.000 kilogr. d'eau de pluie, si on admet que toute cette eau est absorbée après avoir été saturée d'ulmate de calcium, elle ne renfermerait que 150 kilogr. d'acide ulmique.

Liebig observe en outre que la quantité de carbone absorbée par un hectare est sensiblement la même, quelle que soit la richesse du sol en humus.

(1) Th. de Saussure : *Recherches chimiques sur la végétation*. 1804.

(2) Duchartre pense qu'il s'agit d'*Eupatorium cannabinum*, L. P. Duchartre : *Éléments de botanique*, 2e édit., p. 346.

(3) Justus Liebig : *Chimie appliquée à l'Agriculture*. Traduction de Charles Gerhardt, 2e édit., 1844.

Digitized by Google

« De ces faits irrécusables, il faut conclure », dit-il, « que des » surfaces égales de terres propres à la culture peuvent produire » une quantité égale de carbone. Ainsi, *l'engrais ne concourt pas à » la production du carbone, et il n'y exerce aucune action directe* ».

Les nombreuses discussions que soulevèrent ces idées montrent suffisamment combien était admise partout alors la théorie de l'humus. De Saussure lui-même finit par se rallier aux arguments de Liebig, et vers la fin de sa vie, il abandonna l'opinion appuyée par ses propres recherches.

Boussingault (1) partage l'opinion de Liebig. « J'admets » dit-il, « que *la totalité du carbone assimilé par les plantes a le gaz acide carbonique pour origine*, parce que je ne connais pas une observation assez nette et assez complète pour établir que les matières organiqnes carbonées contenues dans le sol, les acides bruns, par exemple, leur fournissent directement du carbone. Je crois que le carbone de ces matières doit d'abord être brûlé, constituer du gaz acide carbonique avant d'entrer dans l'organisme végétal. La quantité considérable de gaz carbonique que decomposent chaque jour les plantes cultivées sur un hectare est sans doute fournie par les engrais. Il a été prouvé en effet que l'atmosphère confinée d'une terre bien fumée contient jusqu'à 10 pour cent en volume de ce gaz, alors que l'air extérieur qui, à la vérité, se renouvelle incessamment, n'en renferme pas au-delà de 4 pour 10.000. Cette production de gaz carbonique dans un sol ameubli par la charrue est la conséquence de la combustion lente que subissent, sans interruption aucune, les matières organiques, les acides bruns, et c'est là évidemment l'utilité incontestable du terreau et du fumier ».

Cependant Corenwinder (2) établit que les racines des plantes n'ont pas la propriété d'absorber l'acide carbonique, et des conclusions semblables seront formulées plus tard par Déhérain et Vesque (3).

Les expériences très ingénieuses de Cailletet (4) lui permettent

(1) Boussingault, *Chimie agricole*, t. IV, 1868.

(2) B. Corenwinder : *Etudes sur les fonctions des racines des végétaux*, Ann. Sc. natur. 4e série, t. IX, p. 63, 1868.

(3) Déhérain et Vesque : Ann. agronomiques, t. II, p. 513. 1876.

(4) Cailletet : *Sur l'origine du carbone fixé par les végétaux à chlorophylle.* C. R. de l'Acad. des Sciences, 1871, p. 1476.

Digitized by Google

d'aller plus loin et de nier en même temps le rôle de l'humus et celui du gaz carbonique du sol dans l'assimilation du carbone.

Il prend des plantes vertes en pleine végétation dans un sol riche et enveloppe les parties aériennes d'une cloche dans laquelle il fait passer un courant d'air privé de gaz carbonique ; les plantes jaunissent et ne tardent pas à périr, et l'auteur ajoute :

« L'acide carbonique dissous, ainsi que les produits de décom-
» position des engrais, mis en contact avec les racines, sont
» absolument insuffisants pour l'entretien de la vie des plantes à
» chlorophylle ; je dois conclure également que *tout le carbone fixé*
» *par ces végétaux provient de l'acide carbonique de l'atmosphère* qui,
» absorbé par les organes verts, se décompose et se transforme en
» produits organisés sous l'influence de la lumière. »

Les résultats obtenus par divers expérimentateurs dans la culture des plantes vertes sur des milieux artificiels entièrement dépourvus de matière organique apportèrent enfin un argument qui parut décisif en faveur des idées de Liebig. Déjà en 1748, Duhamel avait élevé un pied de Fève dans l'eau de rivière depuis la graine jusqu'à la maturité des fruits ; plus tard, il est vrai, de Saussure avait obtenu des résultats moins satisfaisants en arrosant d'eau pure un sol inerte ; mais Boussingault cultivait avec succès le Grand Soleil sur du sable calciné additionné de sels minéraux, et Georges Ville préconisait en agriculture les fumures exclusivement minérales. Enfin la méthode des cultures en milieux liquides inaugurée par Duhamel reçut de Sachs (1) et de Knop ses derniers perfectionnements et il fut bien établi, conformément aux conclusions de Cailletet, que tout le carbone des plantes vertes, à l'exclusion cependant de celui qui provient des réserves de la graine, peut être fourni par le gaz carbonique de l'atmosphère.

Il fallait expliquer néanmoins la fertilité bien reconnue des terres riches en humus ; c'est alors que Grandeau (2) entreprend des recherches sur les terres noires de la Russie ; elles le conduisent aux conclusions suivantes :

« 1° Les sols fertiles renferment les éléments nutritifs miné-

(1) Sachs : *Physiologie végétale*, p. 134.

(2) L. Grandeau : *Recherches expérimentales sur le rôle des matières organiques dans la nutrition des plantes*. Ann. de la Station agron. de l'Est, p. 225, 1878 ; et CR. de l'Acad. des Sc., t. 74, p. 988, 1872.

Digitized by Google

» raux sous la forme où nous les offre le fumier de ferme et notam-
» ment le purin ;

» 2° La fertilité du sol est étroitement liée à la richesse en
» éléments minéraux de la matière organique soluble dans l'ammo-
» niaque qu'elle renferme ;

» 3° Les substances organiques sont, dans la nature, le véhicule
» des aliments minéraux ; elles les extrayent du sol pour les
» présenter sous une forme immédiatement assimilable aux
» racines des végétaux ». En particulier les combinaisons solubles formées par l'humus avec les phosphates mettraient par dialyse ces derniers sels en liberté. C'est dire que Grandeau admet déjà une action chimique encore mal définie des matières organiques sur les substances minérales, et que l'humus n'intervient pas seulement pour modifier avantageusement les qualités physiques du sol.

En 1885, Duclaux (1) cultivant des Fèves, des Pois, des Lupins dans un milieu stérilisé contenant du lait, de l'amidon, du sucre de canne, reconnaît que le sucre ne s'intervertit pas, l'amidon ne donne pas de sucre, la caséine du lait reste intacte : mais « il y
» avait perte de substance tenant à ce qu'une partie du liquide
» passait dans les tissus de la jeune plante, emportant avec lui un
» peu de la matière qu'il contenait lorsque cette matière pouvait
» subir l'endosmose ». Mais en constatant que la jeune plante était incapable de sécréter à l'extérieur les diastases qui président à la transformation du sucre, de l'amidon ou de la caséine, l'auteur avait conclu que, dans la nature, elle n'est pas faite pour utiliser ces aliments, portés à un haut degré de complication par la vie végétale ou animale ; il lui faut des éléments plus simples.

On a même donné des recherches de M. Duclaux une interprétation qui n'est certainement jamais entrée dans la pensée du savant Directeur de l'Institut Pasteur, et dans plus d'un ouvrage de vulgarisation (2) on enseigne couramment que la germination est impossible dans un sol stérilisé.

Ainsi malgré le résultat expérimental obtenu par de Saussure,

(1) Duclaux : *Note sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais privé de microbes.* Comptes rendus, T. C., p. 68, et Annales de l'Institut Pasteur, 1895, p. 896.

(2) Voir notamment : A. V. Cornil et V. Babès : *Les Bactéries*, t. I, p. 20, 1890, et Loverdo : *Les maladies cryptogamiques des céréales*, p. 16, 1892.

Digitized by Google

il est admis que les matières organiques ne fournissent pas de carbone à la plante verte, et la plupart des traités classiques adoptent cette opinion. Après avoir affirmé que les racines peuvent puiser l'acide carbonique dans le sol, Müntz et Girard (1) ajoutent que « les engrais carbonés ont du reste été directement étudiés, notam- » ment par Lawes et Gilbert, et dans aucun cas leur intervention » n'a produit de résultats ».

Il est bien entendu que toutes ces conclusions s'étendent uniquement aux plantes vertes, car on savait depuis longtemps que le mycélium des Champignons se nourrit directement de substances organiques dans lesquelles il puise tout le carbone nécessaire à la plante. Les Phanérogames sans chlorophylle comme la Cuscute se comportent de même par l'intermédiaire de leurs suçoirs. Il faut aussi, pour expliquer le mode de vie des quelques Phanérogames saprophytes dépourvues de chlorophylle comme les Neottia, admettre que leurs racines sont capables d'absorber des substances carbonées, et l'on peut se demander, en appliquant le principe de continuité, pourquoi il n'en serait pas ainsi pour les racines des autres Phanérogames.

La découverte des Mycorhizes par Frank parut lever la difficulté. Les filaments mycéliens associés par exemple aux racines des Cupulifères ou des Orchidées formeraient avec elles une union symbiotique dans laquelle le Champignon, digérant l'humus, serait en état d'assimiler l'azote organique pour le céder ensuite à la Phanérogame, qui, en l'absence de mycorhizes, présenterait des caractères manifestes d'inanition azotée. Encore Frank n'insiste-t-il guère sur l'importance d'une telle association pour la nutrition carbonée de la plante, sans doute parce que ses observations ont porté principalement sur des plantes vertes.

Accueillis d'abord avec quelque faveur, ces résultats sont aujourd'hui contestés par quelques physiologistes, et Pfeffer (2) les considère comme invraisemblables. Il se contente de remarquer que les Champignons travaillent, conjointement avec les Bactéries, à la préparation de la nourriture des autres plantes, et c'est ainsi que les composés organiques du sol, digérés, décomposés par les êtres inférieurs, seraient ramenés à l'état de substances moins complexes,

(1) Müntz et Girard : *Les engrais*, t. I, p. 10 à 15, 1891.
(2) Pfeffer : *Pflanzenphysiologie*, t. I, 1897.

Digitized by Google

probablement de sels minéraux utilisés pour l'accroissement ultérieur des plantes vertes. La difficulté soulevée au sujet des Phanérogames saprophytes dépourvues de chlorophylle reste donc entière.

Mais en reprenant les expériences anciennes il est facile de voir qu'un grand nombre d'entre elles semblent en contradiction avec les idées actuellement reçues.

Sans doute les cultures de Th. de Saussure prêtent à la critique parce qu'elles n'ont pas été réalisées dans un milieu stérilisé, et le développement des microorganismes pourrait expliquer facilement la disparition d'une partie de la matière sucrée; il suffit cependant de remarquer que l'apparition de moisissures ou de bactéries n'aurait pu échapper à un obervateur tel que de Saussure, et les conditions mêmes dans lesquelles il a opéré ne se prêtent guère à la multiplication rapide des organismes inférieurs qui exigent, outre l'eau distillée et les matières organiques, un certain nombre de substances minérales. Il est donc très possible que les résultats consignés dans les *Recherches chimiques sur la végétation* soient rigoureusement exacts, et l'argumentation de Liebig n'est pas suffisante pour les faire rejeter.

Assurément il n'est pas douteux que la fonction chlorophyllienne ne fournisse aux plantes vertes la majeure partie du carbone qui entre dans leurs tissus, mais il n'est pas nécessaire de conclure que le carbone ne peut provenir d'une autre source. C'était l'opinion professée par Sachs (1) pour lequel « les plantes non parasites à » feuilles vertes qui vivent dans un sol très riche, forment leur » substance combustible, en partie en absorbant les matières orga- » niques, en partie en décomposant l'acide carbonique ». Et Liebig considère à tort les matières organiques du sol comme formées d'acide ulmique chimiquement pur. Les débris organiques que contient la terre végétale subissent, de la part des bactéries, une décomposition constante dont l'acide ulmique est l'un des produits ultimes ; mais ce composé doit être accompagné d'un grand nombre d'autres : sucres, alcools, etc., que peut-être les plantes pourraient utiliser pour leur nutrition.

Déjà en 1865, Hampe (2) avait entrepris sur l'absorption des

(1) Sachs : *Physiologie végétale*, 1868.
(2) D'après Pfeffer, *Pflanzenphysiologie*, t. I, p. 367, 1897.

Digitized by Google

matières organiques azotées des expériences qui ont été continuées par Knop et Wolf, Birner et Lucanus, Beyer, Wagner, Bente Baeseler et Hansteen. Par la méthode de culture en milieux liquides, ces auteurs avaient établi que diverses plantes, Blé, Avoine, Maïs, peuvent se contenter comme nourriture azotée, de substances amidées : glycocolle, asparagine, leucine, tyrosine, guanine, créatine, acide hippurique, acétamide, propylamine, et comme leurs cultures paraissent avoir été faites en l'absence de microorganismes, il fallait conclure que malgré leur structure complexe, certains composés quaternaires étaient absorbés et assimilés.

Wagner avait même obtenu un résultat plus remarquable, le dédoublement de l'acide hippurique en glycocolle absorbé par les racines et acide benzoïque non utilisé. Il est vrai que les recherches de Knop et Wolf établissent une distinction parmi les substances azotées dont quelques-unes comme la morphine, la quinine, la cinchonine, la coffeïne, les ferro et ferrocyanure ne peuvent être utilisées.

Enfin postérieurement à mes premières publications, les travaux de Lutz (1) sont venus confirmer et étendre ces expériences déjà anciennes des physiologistes allemands en montrant que les amines sont d'autant plus facilement utilisées par les végétaux que leur poids moléculaire est plus faible, et l'on peut remarquer qu'en contribuant à la nutrition azotée de la plante, elles lui apportent en même temps de petites quantités de carbone.

Les recherches mêmes de Duclaux doivent être interprétées en faveur de la nutrition par les matières organiques. Quoique le sucre de canne ne soit pas interverti par les racines des Légumineuses, il est difficile d'admettre qu'après avoir pénétré dans la plante, il ne puisse servir à la croissance du végétal, au même titre que le saccharose dont elles ont réalisé la synthèse.

Il n'est pas enfin jusqu'à Müntz et Girard (2) qui n'expriment au sujet de la culture de la betterave, une opinion favorable à notre thèse. « Nous adopterons, disent-ils, les conclusions de MM. Lawes » et Gilbert qui conseillent *l'apport abondant de matières organiques* » *principalement carbonées* qui activent la végétation, l'azote devant

(1) Lutz : *Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique.* Thèse de Doctorat, 1899.

(2) Müntz et Girard : *loc. cit.*

Digitized by Google

» être rarement fourni par les engrais spéciaux, mais le plus » souvent par la culture. C'est du reste un usage constant et justifié » à tous les points de vue, d'appliquer à haute dose le fumier aux » plantes à racines. » On peut remarquer que ce passage est en contradiction formelle avec celui que nous avons cité plus haut.

Si les essais de culture de Grandeau ont montré que la matière noire, préparée par un procédé spécial, ne pénètre pas dans les racines des plantes, il existe cependant dans différents sols, comme l'a montré Petermann (1), des matières organiques dialysables et quoiqu'on ne puisse affirmer que les substances qui traversent le papier parchemin franchissent aussi bien la paroi des cellules végétales, il est très vraisemblable qu'elles peuvent parvenir dans le corps de la plante et peut-être concourir à sa nutrition.

Nous trouvons enfin la théorie de l'humus développée de nouveau dans ces dernières années par E. Bréal (2), dont les travaux sont appuyés de l'autorité de Déhérain.

Bréal cherche à réunir en un corps de doctrine quelques faits favorables à l'utilisation de l'humus et entreprend des expériences « qui démontrent », dit-il, « les propriétés fertilisantes de cette matière carbonée ». Examinons donc si les arguments développés par l'auteur offrent assez de précision pour considérer la question comme résolue scientifiquement.

Tout d'abord les champs d'expérience de Grignon ont fourni à Déhérain des chiffres qui établissent la supériorité des fumures organiques sur les fumures minérales. Les récoltes de céréales, de betteraves, de maïs fourrage, etc., obtenues avec le fumier de ferme, dépassent en effet très sensiblement celles que donnent les engrais chimiques.

Plus concluantes encore sont les expériences de Grandeau (3), sur l'incorporation de tourbe à des sols pauvres en matière organique puisqu'avec les mêmes engrais minéraux, l'augmentation du rendement a été de 63 pour cent en sol argilo-siliceux pour l'ensemble des huit années de mise en culture. Mais les propriétés

(1) A. Petermann : *Recherches sur la dialyse des terres arables.* Bull. de l'Académie royale de Belgique, 3e série, t. III, p. 74.

(2) E. Bréal : *Alimentation des végétaux par l'humus et les matières organiques.* Ann. agron., t. XX, p. 343.

(3) Grandeau : *loc. cit.*

Digitized by Google

physiques du sol sont tellement modifiées par l'apport de matière organique que les observations de Grandeau sur les terres noires de Russie, comme aussi celles de Boussingault sur le gaz carbonique du sol s'appliquent là tout entières, et la question n'a pas fait un seul pas.

Je n'insisterai pas sur les recherches relatives à l'allongement comparé des radicelles de *Poa annua* dans des solutions privées ou non d'humate de potassium, pas plus que sur les expériences dans lesquelles les mêmes racines de *Poa* ont gravé leur empreinte sur une feuille de papier à filtre imprégnée d'acide humique insoluble. Bréal semble admettre que cet acide a été digéré, puis absorbé par la plante, mais cette digestion n'est pas vraisemblable puisque les substances excrétées par les racines ont une réaction acide manifeste et que l'humus ne peut se dissoudre que dans une liqueur alcaline. Il serait plus simple d'expliquer le phénomène par une action mécanique des racines qui auraient déplacé les particules d'humus à mesure de leur croissance, et même s'il y a, comme le prétend Molisch (1), sécrétion par les racines d'une oxydase capable de ramener l'humus à l'état d'eau et de gaz carbonique, nous retombons une fois de plus sur la question, généralement peu contestée, de l'utilité du gaz carbonique du sol dans la nutrition de la plante.

Enfin dans les cultures faites en milieux liquides contenant soit du sucre, soit de l'humate de potassium, la quantité de matière organique absorbée a été si faible qu'il n'est guère possible de conclure que ces substances sont réellement utiles à la plante.

On sait, en effet, depuis les recherches de De Saussure (2) et de Déhérain (3) que les matières solubles, utiles ou non, qui ne tuent pas immédiatement les racines, sont absorbées par elles en proportion variable selon leurs propriétés osmotiques, et l'on comprend ainsi qu'une touffe de *Poa* ait pu absorber en une nuit 1/10 de milligramme de sucre de canne, tandis qu'un autre pied de la même espèce absorbait en deux ou trois jours la quantité d'acide humique correspondant à 7 milligrammes de carbone.

Seules les expériences faites antérieurement par Déhérain et

(1) *Sitzungsber. der Akad. d. Wissensch. zu Wien*, XCVI.
(2) *Loc. cit.*
(3) P. P. Déhérain. *Recherches sur l'assimilation des substances minérales par les plantes*. Ann. des Sc. Nat., 5e série, t. VIII, p. 145, 1867.

Digitized by Google

Bréal (1) sur des plantules de Lentille, de Blé, de Haricot, cultivées soit dans l'eau ordinaire, soit dans l'ulmate de calcium, apportent des arguments plus sérieux en faveur de l'utilisation de l'humus. Encore ne nous renseignent-elles que très imparfaitement sur le rôle de cette substance, puisqu'elles ne nous donnent pas le poids d'ulmate de calcium réellement absorbé.

Prenons par exemple les résultats obtenus dans les cultures de Lentille. 100 plants de Lentille ont donné les poids suivants de récoltes séchées à 100° :

1° Dans l'eau ordinaire	2 gr. 750
2° Dans l'eau ordinaire avec ulmate de calcium .	4 gr. 000
Différence . . .	1 gr. 250

Cet excédent de substance sèche provient-il de l'ulmate absorbé ; ou, ce qui est plus vraisemblable, la solution d'ulmate a-t-elle eu simplement pour effet de favoriser, mieux que l'eau ordinaire, l'assimilation du carbone par la fonction chlorophyllienne ? C'est ce que les auteurs n'ont pas mis en évidence.

On trouve même dans leur travail des chiffres qui rendent cette distinction nécessaire. Ainsi ces mêmes cultures de Lentille ont donné 2 gr. 250 seulement de matière sèche dans l'eau ordinaire avec azotate et phosphate de potassium, et cependant nul ne contestera l'utilité de ces deux sels pour la végétation. Mais en dehors de tout aliment, la concentration des liqueurs de culture peut exercer une action sur la turgescence des cellules, facilitant leur croissance dans certains cas, la gênant dans d'autres, de telle sorte que la question devient plus complexe qu'elle ne le paraît tout d'abord.

En résumé, le mémoire de Bréal apporte une série d'arguments desquels on peut déduire une présomption favorable à l'utilisation de l'humus, mais il est loin de fournir une démonstration complète faute d'avoir séparé nettement deux questions absolument indépendantes : l'une exclusivement agricole, les bons effets incontestables de l'humus dans un sol cultivé ; l'autre purement scientifique, l'absorption et l'utilisation de l'humus par les végétaux.

(1) P. P. Déhérain et E. Bréal : *Recherches sur l'influence des matières minérales dans la germination*. Ann. agronomiques, t. IX, p. 58.

Digitized by Google

Ajoutons enfin que dans son travail sur le rôle de l'humus, Wollny (1), tout en acceptant complètement les idées de Bréal, s'attache surtout à mettre en évidence l'influence favorable exercée par l'humus sur les propriétés physiques ou chimiques du sol.

La découverte de Böhm et les recherches ultérieures de Meyer, E. Laurent et Acton permirent enfin d'orienter la question dans une voie nouvelle.

Dès 1877, Böhm (2) avait obtenu la formation d'amidon dans des plantules de Haricot qui avaient épuisé leurs réserves à l'obscurité en les plaçant dans des solutions concentrées de glucose ou de saccharose. Ces matières organiques avaient-elles pénétré dans les tissus où s'était formé l'amidon ? On en pouvait douter puisqu'une solution de chlorure de sodium agissant sur *Sedum spectabile* en provoque la plasmolyse et amène également, par concentration du suc cellulaire, la formation de réserves amylacées.

Les multiples essais entrepris par Meyer (3), et surtout par E. Laurent (4), qui a étudié à ce sujet le rôle de 113 substances organiques, sont venus confirmer le premier résultat de Böhm. Les fragments de feuilles déposés sur la solution nourricière, les tiges de Pomme de terre étiolées plongées par leur base dans la même liqueur forment de l'amidon lorsqu'on leur fournit l'une ou l'autre des matières suivantes : glucose, lévulose, galactose, saccharose, lactose, maltose, glycérine ; il faudrait y joindre la mannite pour les Oléacées, la dulcite pour le Fusain, et l'apparition de l'amidon n'est pas provoquée par un phénomène de plasmolyse puisqu'on peut plasmolyser les mêmes tissus à l'aide de solutions à 5 °/₀ de chlorure de sodium ou de nitrate de potassium sans provoquer la formation de grains d'amidon. Ajoutons que les insuccès fournis par d'autres substances rendent très invraisemblables les résultats annoncés par Stutzer (5) qui aurait obtenu une augmentation de

(1) Dr Wollny : *La décomposition des matières organiques et les formes d'humus dans leurs rapports avec l'agriculture.* Ann. de la science agronom. française et étrangère. 1898 à 1900.

(2) Böhm : *Berichte der chemisch. Gesellsch.*, 1877, et *Bot. Zeitung*, 1883.

(3) *Bot. Zeitung*, 1886.

(4) Emile Laurent. *Recherches expérimentales sur la formation d'amidon dans les plantes aux dépens de solutions organiques.* Bruxelles, 1888.

(5) *Berichte der chem. Gesellsch.* 1876, et *Bot. Zeitung*, 1877.

Digitized by Google

poids sec en arrosant le sol, non seulement avec la glycérine, mais encore avec les acides acétique, succinique et tartrique.

Ces expériences furent reprises peu de temps après par Acton (1) qui privait les plantes d'amidon par culture à la lumière dans une atmosphère privée de gaz carbonique. Dans de telles conditions il obtint encore la formation de réserves, non seulement en faisant absorber la solution nutritive par les feuilles ou par la section des rameaux, mais en la faisant pénétrer par les racines intactes.

Malheureusement le travail d'Acton ne nous est connu que par le trop court résumé publié dans les travaux de la Société royale de Londres et le mode opératoire n'y est pas exposé avec assez de détails pour permettre une discussion approfondie des résultats particulièrement importants signalés par l'auteur. Il indique en effet parmi les substances capables d'être utilisées pour la formation d'amidon, non seulement le glucose, le saccharose et la glycérine, mais encore l'inuline, fournie soit aux branches, soit aux racines, l'amidon soluble présenté aux feuilles et enfin l'*extrait d'humus naturel mis à la disposition des racines*, sans nous renseigner sur les précautions prises pour éviter les erreurs dues à la plasmolyse par les solutions concentrées ou à la disparition incomplète de l'amidon.

Il est certainement beaucoup plus délicat de faire pénétrer une matière organique par les racines que d'en provoquer l'absorption par la section d'un rameau ou la surface d'une feuille et les conclusions de Meyer et E. Laurent, pas plus que les recherches si intéressantes de Bokorny (2) sur le rôle de la glycérine ou du méthylal dans la nutrition des Lentilles d'eau ou des Spirogyres ne nous renseignaient pas sur ce point important de l'absorption des aliments carbonés par les racines.

On voit donc par ce résumé rapide des travaux accomplis depuis un siècle que la question de nutrition organique des plantes vertes est toujours restée en suspens. En ce qui concerne les matières organiques azotées, Lutz lui a fait faire un pas décisif : mais une démonstration semblable était nécessaire pour les composés carbonés.

Dans l'impossibilité où je me trouvais de passer en revue tous

(1) E. Hamilton Acton : *The assimilation of Carbon by Green Plants from certain Organic Compounds*. Proceedings of the Royal Society, n° 280, 16 mai 1889.

(2) Bokorny : *Ueber Kohlensäureassimilation*. Biologisches Centralblatt, 1892.

Digitized by Google

les composés carbonés, j'ai choisi ceux d'entre eux dont on pouvait soupçonner le rôle, soit par les recherches antérieures, soit par leur présence dans les tissus végétaux. Ce sont le glucose et le lévulose, le sucre de canne, la dextrine, l'amidon, la glycérine et enfin l'acide humique.

Pour obtenir des résultats indiscutables, il était nécessaire de cultiver les plantes dans un milieu de composition connue, soigneusement stérilisé, et de les placer dans des conditions telles que leur développement pût se faire normalement. La méthode des cultures en milieux liquides permet seule de vérifier sûrement l'absence d'organismes inférieurs et de déterminer par des analyses précises la composition du milieu. Son application nécessite toujours une opération préliminaire, la stérilisation des graines, et ainsi la première partie du présent travail se trouvera divisée en 3 chapitres :

1° Stérilisation des graines ;

2° Méthodes générales de culture en milieux liquides stérilisés ;

3° Application de ces méthodes à diverses substances organiques.

Dans une seconde partie, j'étudierai l'influence de quelques matières organiques sur la croissance, la morphologie externe et enfin la structure anatomique de la plante.

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I

STÉRILISATION DES GRAINES

La stérilisation parfaite d'une graine présente quelques difficultés, car il est nécessaire de détruire tous les germes situés à sa surface sans porter atteinte à sa faculté germinative. Sans doute depuis les expériences de Bénédict Prévost (1), les agriculteurs

(1) Bénédict Prévost : *Mémoire sur la carie*, 1807.

Digitized by Google

obtiennent une stérilisation partielle des graines de céréales par l'immersion momentanée dans une solution étendue de sulfate de cuivre, et Stoklasa (1) a cherché à rendre pratique un traitement des graines de Betterave par le bichlorure de mercure. Mais ces procédés, excellents en agriculture, n'ont été étudiés qu'en vue de la destruction des parasites du Blé ou de la Betterave, et il n'a pas été prouvé qu'ils étaient suffisants pour des recherches de laboratoire. Dans les expériences que j'ai rapportées plus haut (2), Duclaux avait, il est vrai, résolu le problème; mais le travail annoncé à ce sujet n'ayant pas été publié, du moins à ma connaissance, j'ai dû reprendre entièrement la question afin de déterminer avec précision le mode opératoire.

Lorsqu'on passe rapidement une graine dans la flamme d'un brûleur, il est impossible de s'assurer que tous les points de la graine ont été flambés ; en particulier le micropyle échappe à peu près infailliblement à l'action de la flamme et avec lui les germes qui peuvent s'y trouver déposés. Si d'ailleurs on prolonge l'action de la chaleur, on arrive bien vite à tuer la graine. Je fus donc amené à rejeter l'emploi de la chaleur pour utiliser les substances chimiques reconnues comme antiseptiques. Parmi elles, le sublimé corrosif se recommande spécialement par la rapidité avec laquelle il tue les spores, même après un temps d'immersion assez court.

Mais il fallait s'assurer à l'avance que des graines sont capables de germer après immersion dans le sublimé. Diverses graines furent donc plongées pendant un temps variable dans une solution de bichlorure de mercure à 2 grammes par litre, puis lavées à l'eau ordinaire et ensemencées sur du sable humide; des graines de même espèce et provenant du même lot étaient plongées dans l'eau pendant un temps égal et ensemencées dans les mêmes conditions à titre de comparaison. On déterminait dans chaque cas le nombre de germinations obtenues pour 100 graines ensemencées.

Les expériences furent ainsi faites avec le Blé, le Maïs, le Sarrasin, le Haricot Prédom, le Haricot d'Espagne, le Séneçon vulgaire; les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

(1) Analysé dans les *Ann. agronomiques* du 25 août 1900.
(2) Duclaux : *loc. cit.*

Digitized by Google

Durée d'immersion dans le sublimé	Nombres de germinations sur 100 graines				
	Blé	Maïs	Sarrasin	Haricot Prédom	Haricot d'Espagne
0 heure	99	90	93	96	100
0.15 m.	»	»	»	»	100
0.30 m	97	88	86	28	96
0.45 m.	»	92	»	»	»
1 heure	99	90	88	18	92
2 »	90	86	74	4	80
3 »	83	86	65	2	32
4 »	77	36	63	2	20
5 »	44	16	61	0	4
6 »	37		38	0	
7 »	26		43		
8 »	14				
16 »	2				
22 »	0				

Diverses conclusions se dégagent des chiffres de ce tableau et d'un assez grand nombre d'autres essais entrepris sur le Pois, la Lentille, le Séneçon vulgaire, etc.

1° La solution de sublimé à 2 pour 1000 ne tue pas immédiatement les graines.

2° La durée d'immersion que celles-ci peuvent supporter dépend à la fois de leur volume et de leur nature spécifique.

3° Pour une même espèce le sublimé tue d'autant plus rapidement la graine qu'elle est de plus petite taille ; la comparaison des deux variétés de Haricot est particulièrement instructive à cet égard, car le poids moyen d'une graine est de 0 gr. 26 pour le Haricot Prédom et de 1 gr. 70 pour le Haricot d'Espagne.

4° Pour des espèces différentes, son action dépend à la fois des dimensions de la graine et de la perméabilité du tégument ; les caryopses des Graminées sont ainsi plus résistants que les graines des Légumineuses, et si l'akène du Sarrasin peut être immergé assez longtemps dans le liquide antiseptique, celui du Séneçon vulgaire est tué après une demi-heure.

5° Il existe enfin des variations importantes dans les graines d'un même lot ; alors que la solution de bichlorure de mercure tue 86 pour cent des graines de Blé après 8 heures d'immersion, elle

Digitized by Google

en laisse néanmoins germer 14 pour cent qui ont été placées exactement dans les mêmes conditions. Le fait peut s'expliquer par la nature du tégument dont l'épaisseur varie d'une graine à une autre et par les altérations que peut présenter sa surface.

Les expériences précédentes ont été reprises avec des solutions plus concentrées renfermant 4, 6, 8, 10 grammes de sublimé par litre, puis avec la solution acide composée de 1 gramme de bichlorure de mercure, 1 gramme de chlorure de sodium et 5 cmc. d'acide chlorhydrique par litre. Avec le Maïs Cinquantini j'ai obtenu les résultats suivants :

Nature de la solution	Nombres de germinations obtenues sur 100 graines				
	Témoins	1 h. d'immersion	1 heure 1/2	2 heures	2 heures 1/2
Solution acide	92	96	88	88	88
Sublimé à 4 °/₀₀	92	60	64	56	36
Sublimé à 6 °/₀₀	90	56	44	28	30
Sublimé à 8 °/₀₀	90	44	32	24	12
Sublimé à 10 °/₀₀	90	32	24	28	16

Ainsi la solution acide ne modifie pas sensiblement le pouvoir germinatif tant que la durée d'immersion ne dépasse pas deux heures et demie, par contre les solutions de sublimé le diminuent d'autant plus qu'elles sont plus concentrées.

En même temps que le sublimé tue un certain nombre de graines, il ralentit la germination de celles qui ont résisté à son action et peut modifier sensiblement la vigueur des plantes qui en proviennent. Opérant sur le Blé, j'ai noté de jour en jour le nombre des graines qui avaient germé, les unes ayant été plongées dans l'eau pure, les autres pendant le même temps dans le sublimé à 2 grammes par litre. Quelques-uns des résultats obtenus sont donnés ci-contre.

On voit de suite qu'avec une durée d'immersion qui n'excède pas une heure, la germination s'accomplit dans les conditions normales; il semble même résulter de quelques autres essais que les graines soumises pendant 15, 30 et même 45 minutes à l'action du sublimé présentent, tout au moins au début, une légère avance sur les témoins, peut-être à cause d'une altération du tégument qui facilite

Digitized by Google

la sortie de la radicule. A partir de deux heures d'immersion, le retard est manifeste et il va croissant de plus en plus avec la durée d'action du sel de mercure. En même temps les pieds obtenus deviennent chétifs, rabougris, incapables d'atteindre la taille normale de l'espèce, et les derniers développés meurent avant d'avoir épuisé les réserves de la graine.

Durée d'immersion	Nombre de graines ayant germé après				Hauteur moyenne de la plante après 7 jours de végétation	Hauteur moyenne de la plante après 18 jours de végétation
	7 jours	10 jours	12 jours	18 jours		
Témoin	99	99	99	99	5 cm.	35 cm.
1/2 heure	96	97	97	97	5	35
1 heure	97	99	99	99	5	35
2 heures	83	86	88	90	4	30 à 35
3 heures	53	64	72	83	3 à 3.5	30 à 35
4 heures	54	60	66	77	2.5 à 3	25 à 30
5 heures	28	36	39	44	2	20
6 heures	28	31	33	37	2	20
7 heures	10	15	19	26	1.5 à 2	15 à 20
8 heures	5	10	11	14	1.0 à 1.2	10 à 12
16 heures	1	1	1	2	0.2	2
22 heures	0	0	0	0	»	»

Les mêmes conclusions s'appliquent au Sarrasin et sur 100 graines, les nombres de plantules développées ont été les suivants :

Durée d'immersion dans le sublimé à 2 ‰	Nombre de germinations après		
	6 jours de végétation	12 jours	16 jours
Témoin	90	93	93
1/2 heure	79	85	86
1 heure	76	86	88
2 heures	60	74	74
3 heures	51	64	65
4 heures	61	63	63
5 heures	45	59	61
6 heures	33	38	38
7 heures	26	37	43

On constate en même temps que les pieds sont d'autant moins vigoureux que l'action du sublimé a été plus longue.

Digitized by Google

Quelques conclusions pratiques se dégagent de ces diverses expériences :

1° La stérilisation des graines de Blé, de Maïs, de Sarrasin devra être obtenue par une immersion de 2 heures au plus dans la solution de sublimé au $\frac{1}{500}$ si l'on veut éviter un retard trop considérable de la germination, conserver le pouvoir germinatif et obtenir des plantes vigoureuses.

2° La solution acide est moins active, et pour le Maïs le retard n'est pas sensible après 2 heures et demie de contact.

3° Les solutions de sublimé à 4 grammes par litre et au-dessus sont à rejeter à cause du petit nombre de graines capables de germer.

Le temps nécessaire à la stérilisation est déterminé en ensemençant les graines après traitement au sublimé dans divers liquides nutritifs. J'ai employé successivement la liqueur de Cohn, le bouillon de viande avec 1 pour cent de glycérine et de glucose, et enfin la liqueur Detmer additionnée de 2 à 5 pour cent de glucose, de sucre de canne ou d'asparagine. Ce dernier milieu était particulièrement intéressant à étudier puisque c'est celui-là même qui sera employé par la suite dans un assez grand nombre de cultures.

Après 8 à 15 jours à l'étuve à des températures comprises entre 20 et 35° j'examinais les tubes à essais ensemencés ; le développement des bactéries ou des moisissures s'y trouvait indiqué par un trouble de la liqueur.

Avec le Blé, le Maïs et le Sarrasin, l'action du sublimé pendant une demi-heure donne une stérilisation apparente vis-à-vis de la liqueur de Cohn assez peu favorable au développement des bactéries ; mais dans la liqueur de Detmer et mieux encore dans le bouillon de viande, on voyait le liquide se troubler dans la plupart des essais. Après une heure de contact les résultats sont encore insuffisants, car le sublimé arrête le développement des spores sans les tuer complètement et un certain nombre d'entre elles sont capables d'entrer en germination au bout de quelques jours. Il m'a fallu maintenir les graines pendant une heure et demie dans la solution de bichlorure de mercure à 2 °/₀₀ ou dans le sublimé acide pour obtenir une stérilisation complète.

Les graines de Pois, de Lentille, à tégument lisse retiennent

Digitized by Google

moins de germes à leur surface et sont de stérilisation plus facile; certains lots laissent le bouillon de viande inaltéré après un quart d'heure seulement d'immersion dans le sublimé; elles se prêtent ainsi beaucoup mieux que le Blé et le Maïs à des cultures en présence de matières organiques. Néanmoins si l'on a soin d'agiter les graines dans la liqueur antiseptique de manière à les débarrasser des bulles d'air qui adhèrent à leur surface, on parvient assez aisément à une stérilisation superficielle puisque sur 69 essais relatifs à des graines de Maïs immergées une heure et demie dans le sublimé je n'ai eu que 4 insuccès.

Il n'en a pas été de même dans mes expériences de culture et malgré les précautions prises j'ai eu de nombreux mécomptes qui ne sont pas entièrement dus à l'insuffisance du matériel dont je pouvais disposer ou à l'organisation défectueuse du laboratoire. Je pratiquais bien sur les murs et sur le sol de fréquentes pulvérisations de sublimé; au moment des ensemencements, j'avais soin d'arroser le sol et d'éviter les courants d'air et malgré cela j'ai souvent obtenu plus d'insuccès que de bons résultats. Des bactéries et beaucoup plus fréquemment encore des Penicillium envahissaient parfois les 2/3, sinon les 3/4 de mes cultures. Certains lots de graines m'ont fourni d'excellents résultats; avec d'autres la liqueur de culture restait stérile pendant les 15 à 20 premiers jours de végétation, puis on voyait apparaître des taches de Penicillium tantôt entièrement immergées, blanches, sphériques, et de croissance assez lente, tantôt superficielles, de couleur verte, et à développement plus rapide. Je n'ai pas eu le loisir de rechercher si le fait est dû à l'action incomplète du sublimé sur les spores ou à l'existence de germes à l'intérieur des graines; mais cette dernière hypothèse est rendue très vraisemblable par les recherches de Galippe (1) et de E. Laurent (2).

La pratique de la stérilisation se réduit donc pour les graines de Blé, de Maïs, de Sarrasin, etc., à un traitement d'une heure et demie par le sublimé à $\frac{1}{500}$ suivi d'un lavage à l'eau stérile; mais il importe de faire remarquer que si ce traitement est suffisant dans

(1) V. Galippe : *Note sur la présence de microorganismes dans les tissus végétaux*. C. R. Soc. de Biologie, 25 juin 1887.

(2) E. Laurent : *Sur l'existence de microbes dans les tissus des plantes supérieures*, 1889.

Digitized by Google

un grand nombre de cas, il n'assure pas cependant une stérilisation absolue et dans mes cultures j'ai toujours eu soin de vérifier l'absence d'organismes inférieurs par des ensemencements sur milieux nutritifs.

Chapitre II

MÉTHODES DE CULTURE EN MILIEUX LIQUIDES STÉRILISÉS

La méthode générale de culture est celle qui a été imaginée par Knop ; elle consiste à ensemencer les graines dans l'eau distillée additionnée de sels minéraux. La liqueur de Detmer convient particulièrement pour le Maïs ; sa composition est la suivante :

Azotate de calcium	1 gr.
Chlorure de potassium	0.25
Phosphate monopotassique	0.25
Sulfate de magnésium	0.25
Perchlorure de fer	traces
Eau distillée	1 litre

La liqueur de Knop est préférable pour le Sarrasin.

Les plantes mises en expérience se développent normalement dans ces liqueurs, et à ces milieux favorables au végétal, on ajoute la substance organique à étudier ; on évite ainsi d'opérer sur des cas pathologiques.

I. J'ai utilisé pour la culture des flacons à large ouverture de 350 cmc. environ, à moitié remplis de liqueur Detmer ou de liqueur de Knop additionnée d'un poids connu de matière organique. Les graines sont maintenues à la surface du liquide à l'aide d'un filet de soie soutenu par des fils métalliques.

La stérilisation se fait à l'autoclave lorsqu'il s'agit de matières organiques qui peuvent, comme le glucose, supporter en présence de l'eau une température de 120° sans se décomposer ; pour celles qui subiraient une altération partielle comme le sucre de canne, j'ai utilisé deux méthodes :

1° L'emploi de l'autoclave avec des témoins permettant de déterminer la proportion de substance décomposée ;

Digitized by Google

2° La stérilisation séparée de la liqueur minérale et de la matière organique.

Le flacon refroidi est placé sur un plateau de verre lavé au sublimé; on ensemence les graines puis on recouvre d'une grande cloche à trois tubulures également stérilisée par un lavage au sublimé et reposant sur le plateau par trois supports (Pl. I, fig. 1); des tampons de coton stérilisé ferment toutes les ouvertures sans entraver le renouvellement de l'air.

Dans de telles conditions les graines entrent en germination et les racines *intactes* pénètrent dans la liqueur nutritive; mais comme la plante se trouve dans une atmosphère saturée, l'absorption de liquide par les racines reste toujours assez faible; la tige finit par atteindre le sommet de la cloche; à ce moment l'expérience est arrêtée.

Je prélevais alors, à l'aide d'une pipette stérilisée, quelques centimètres cubes de liquide que j'ensemençais sur gélatine, sur gélose ou sur bouillon de viande afin de m'assurer de l'absence complète d'organismes inférieurs; de même je détachais à l'aide de ciseaux flambés quelques fragments de racines qui étaient répartis sur divers milieux nutritifs. En général, toutes les fois que ma liqueur de culture était restée parfaitement limpide, j'ai pu vérifier par de nombreux essais qu'elle était réellement stérile, et le fait se comprend facilement, étant donné qu'elle constitue par elle-même un milieu très favorable au développement des bactéries et surtout des moisissures.

Cependant j'ai pensé que ma méthode de vérification des liqueurs était insuffisante; elle prouve trop et trop peu. Lorsqu'on prélève avec une pipette quelques centimètres cubes de liquide, celui-ci provient en grande partie du niveau auquel s'enfonce l'extrémité de la pipette; si les bactéries ou les moisissures sont localisées à la surface du liquide, les ensemencements sur gélatine peuvent ne rien donner. D'autre part la liqueur peut renfermer des spores qui n'ont pas germé, mais qui se développeront dans un autre milieu; néanmoins ces germes n'auraient eu aucune influence sur la disparition de la matière organique qui serait due tout entière à l'absorption par les racines; je serais ainsi arrivé à rejeter des expériences exécutées cependant dans de bonnes conditions.

Digitized by Google

II. C'est pour obvier à ces divers inconvénients que j'ai eu recours au dispositif suivant (Pl. I, fig. 2). Mes cultures ont été réalisées dans des flacons à deux tubulures de deux litres de capacité ; l'une des tubulures était occupée par un filet de soie supportant les graines tandis que l'autre portait un tube de verre recourbé en siphon et fermé à la lampe à son extrémité libre. Lorsqu'on passe le flacon rempli de liquide à l'autoclave pour la stérilisation, l'air enfermé dans la grande branche du siphon se dilate et s'échappe en grande partie à travers le liquide, de sorte qu'après refroidissement le siphon se trouve amorcé.

Le flacon était placé sous un tabouret portant une échancrure qui laissait passer la tubulure destinée à recevoir la plante. Les graines stérilisées étaient ensemencées puis recouvertes d'une cloche tubulée reposant sur le tabouret ; des tampons de coton venaient encore fermer toutes les ouvertures. Après quelques semaines de végétation, je brisais la pointe du siphon et je recueillais une partie de la liqueur dans un flacon stérilisé que je fermais ensuite avec du coton. Le reste de la solution était analysé aussitôt ; quant à l'échantillon prélevé, il était maintenu pendant trois semaines à l'étuve à la température de 20°, et je vérifiais par une analyse que la proportion de matière organique n'y avait pas changé. On peut remarquer ici que la disposition du siphon ayant permis l'écoulement du liquide jusqu'à ce qu'il fût désamorcé, j'avais recueilli à la fois la portion moyenne et toute la partie superficielle de la liqueur de culture.

III. Les insuccès nombreux que donnent les deux méthodes précédentes m'ont amené pour certaines expériences qui ne nécessitent pas des cultures de très longue durée à employer simplement des flacons de 750 cmc. à 1 litre de capacité, maintenus fermés par un tampon de coton (pl. I, fig. 3). Chacun de ces flacons recevait environ 200 cmc. de la liqueur nutritive, et les plantules soutenues par un filet de soie se développaient à l'intérieur du flacon, engageant même parfois leurs tiges à travers le coton. Avec des graines bien stérilisées, la contamination des milieux de culture n'est à craindre qu'au moment de l'ensemencement, et avec quelques précautions élémentaires on parvient dans la plupart des cas à opérer en milieux stériles. Les pieds de Maïs, de Lentille, de Pois peuvent ainsi végéter pendant trois semaines à un mois dans de bonnes conditions.

Digitized by Google

Chapitre III

ABSORPTION ET UTILISATION DE DIVERSES SUBSTANCES ORGANIQUES

I. — Recherches sur le glucose

Parmi les substances organiques dont l'étude présente le plus d'intérêt au point de vue de leur rôle dans la nutrition des végétaux, le glucose se trouvait tout particulièrement indiqué ; on le rencontre chez la plupart des plantes à un moment donné de la végétation et on le considère comme l'un des premiers termes de la synthèse des composés carbonés ; on pouvait donc supposer à priori que les résultats obtenus avec lui pourraient fournir d'utiles indications sur la valeur nutritive des autres matières organiques. Je me suis donc efforcé de mettre en évidence par diverses méthodes l'absorption, puis l'utilisation du glucose.

1° *Expériences préliminaires.*

Avant d'appliquer les méthodes générales de culture en milieux stérilisés indiquées dans le chapitre précédent, j'avais entrepris quelques recherches préliminaires moins rigoureuses, il est vrai, mais d'une exécution beaucoup plus simple ; quelques-unes des conclusions qui s'en dégagent seront utilisées par la suite ; aussi ai-je cru devoir les rapporter ici en ayant soin de mettre en relief leurs imperfections.

Les graines sont ensemencées dans la sciure de bois humide, et quand la germination est suffisamment avancée, on enlève les plantules avec précaution ; on sépare avec des pinces les fragments de sciure qui adhèrent aux poils absorbants, et on place les jeunes plantes dans la liqueur de Knop ou dans la liqueur Detmer. Après quelques semaines de végétation, les pieds sont vigoureux ; on lave les racines dans l'eau stérilisée, puis on les plonge dans l'eau distillée récemment bouillie et additionnée d'un poids connu de glucose. Après deux à trois jours au plus on pratique le dosage du glucose à l'aide de la liqueur de Fehling.

Résultats. — 1° Le 19 juin 1896, trois pieds de Maïs cultivés depuis le 9 mai dans la liqueur Detmer sont placés à 3 h. 15' du

Digitized by Google

soir dans 250 gr. d'eau distillée additionnés de 1 gr. de glucose pur.

Le 22 juin, à 3 h. 1/2 du soir, c'est-à-dire après 72 h. 15', il reste 169 cmc. de liqueur renfermant 0 gr. 798 de glucose. L'absorption a été de 202 mgr. soit par jour de 67 mgr. Au début la solution renfermait 4 gr. de glucose par litre ; après l'expérience la proportion est de $\frac{0,798 \times 1000}{169} = 4$ gr. 721 par litre.

2° Le 2 juillet 1896, à 3 heures du soir, les mêmes pieds de Maïs sont placés dans 1 litre d'une solution de glucose à 2 pour 1000. Le 4 juillet, à 2 heures, c'est-à-dire après 47 heures, il reste 860 cmc. de liquide renfermant 1 gr. 72 de glucose. L'absorption a été de 280 mgr. soit environ 140 mgr. par jour. Elle est bien plus active que dans le premier cas parce que les pieds de Maïs étaient beaucoup plus vigoureux.

Au début de l'expérience la liqueur renfermait 2 gr. de glucose par litre ; à la fin la proportion est encore de $\frac{1,72 \times 1000}{860} = 2$ gr. par litre ; la concentration de la liqueur n'a pas changé.

3° Le 19 juin 1896, à 3 heures 15' du soir, trois nouveaux pieds de Maïs en culture comme les précédents depuis le 9 mai sont placés dans une liqueur renfermant 0 gr. 75 de glucose pour 250 cmc. d'eau distillée. Le 22 juin, à 2 h. 45', il reste 183 cmc. de liquide renfermant 0 gr. 556 de glucose ; l'absorption a été de 0 gr. 196 en 77 heures 1/2, soit de 61 mgr. par jour.

La liqueur renfermait primitivement 3 gr. de glucose par litre ; à la fin de l'expérience elle en contient $\frac{0.556 \times 1000}{183} = 3$ gr. 038.

4° Le 5 juin 1899, à 4 heures du soir, différents pieds de Maïs en culture dans la liqueur Detmer depuis le 2 janvier, sont lavés à l'eau stérilisée et plongés dans un volume déterminé d'une solution de glucose dans l'eau distillée contenant 10 gr. de glucose pour 981 cmc de liquide.

Les plantes étaient placées près d'une fenêtre orientée vers l'est ; elles ont été ainsi exposées au soleil jusque 11 heures du matin ; la température du laboratoire s'est élevée jusqu'à 27° pendant l'après-midi ; on se trouvait ainsi dans des conditions particulièrement favorables pour une transpiration très active.

Le dosage du glucose a été fait le lendemain entre 3 et 4 heures du soir ; c'est-à-dire environ 24 heures après la mise en expérience. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Digitized by Google

Désignation des plantes mises en expérience	Durée de l'expérience	Volume primitif de la solution	Volume final	Quantité d'eau absorbée	Quantité d'eau absorbée en 24 heures	Poids de glucose absorbé	Poids de glucose absorbé en 24 heures	Poids de glucose par litre de liquide
	heures	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	grammes	grammes	
a. — 3 pieds de Maïs dont les tiges atteignent 40 centim. de hauteur.	23	250	220	30	31.296	0.635	0.662	au début 10 gr. 195 à la fin 8 gr. 605
b. — 3 pieds de Maïs un peu moins vigoureux que les précédents	23.1/2	250	222	28	28.584	0.590	0.602	au début 10 gr. 195 à la fin 8 gr. 819
c. — 4 pieds de Maïs comparables à ceux de l'expérience *b*. .	24.1/2	230	196	34	33.984	0.615	0.613	au début 10 gr. 195 à la fin 8 gr. 821
d. — 2 pieds de Maïs atteignant la même longueur que ceux de l'expérience *a* .	24.1/2	250	235	15	14.688	0.582	0.568	au début 10 gr. 195 à la fin 8 gr. 365

Désignation des plantes mises en expérience	Durée de l'expérience	Volume primitif de la solution	Volume final	Quantité d'eau absorbée	Quantité d'eau absorbée en 24 heures	Poids de glucose absorbé	Poids de glucose absorbé en 24 heures	Poids de glucose par litre de liquide
	heures	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	grammes	grammes	
a' Exposé à la lumière.	21.1/2	250	221	29	32.352	0.654	0.729	au début 9 gr. 986 à la fin 8 gr. 353
b' A l'obscurité . . .	22.1/2	250	239	11	11.712	0.476	0.506	au début 9 gr. 986 à la fin 8 gr. 469
c' A l'obscurité . . .	22	250	240	10	10.896	0.523	0.568	au début 9 gr. 986 à la fin 8 gr 270
d' Exposé à la lumière (1).	22	252	241	11	12	0.490	0.532	au début 9 gr. 986 à la fin 8 gr. 340

(1) Un accident survenu à l'un des deux pieds de Maïs dont la tige a été partiellement brisée explique pourquoi l'absorption d'eau et de glucose a été sensiblement plus faible que la veille.

Digitized by Google

5° Cette série d'expériences a été reprise le 7 juin, à 5 h. 1/2 du soir, en maintenant les plantes *a* et *d* à la lumière, *b* et *c*, à l'obscurité. La durée des expériences a été sensiblement la même que la veille et les conditions de température et d'éclairement ont peu varié; la température maxima obtenue l'après-midi ayant été de 28°; enfin la solution de glucose employée avait sensiblement même concentration, soit 10 grammes de glucose pour 1002 cmc. de liquide. Un tableau analogue au précédent résume les résultats obtenus.

Discussion et Conclusions. — Cette première méthode, analogue à celle qu'employait de Saussure, peut soulever quelques objections.

1° La stérilisation des racines n'est pas absolue ; cependant pour des expériences de *courte durée*, la proportion de glucose consommé par les organismes inférieurs est à peu près négligeable. Une solution de glucose dans l'eau distillée et préparée dans les mêmes conditions que la liqueur de culture ne s'altère que très lentement à cause précisément de l'absence de sels minéraux. Si d'ailleurs les bactéries ou les moisissures envahissent en grand nombre les cultures, il est facile de le constater par le trouble de la liqueur et d'éliminer les résultats correspondants.

2° Les racines de certaines plantes, notamment celles du Maïs, sont très délicates, et malgré toutes les précautions prises, il est souvent difficile d'éviter la rupture de quelques-unes d'entre elles. Dès lors l'absorption ne se fait plus dans des conditions normales, et on pourrait objecter que le glucose absorbé a pénétré tout entier par les blessures faites aux racines tandis que les racines intactes absorbaient uniquement l'eau.

S'il en était ainsi, la concentration de la liqueur devrait aller croissant dans tous les cas, et d'autant plus vite qu'une petite partie de l'eau s'évapore à l'air libre. L'expérience montre qu'il n'en est rien, et suivant la richesse en glucose du liquide de culture sa concentration augmente ou diminue ; elle se maintient à peu près constante lorsqu'on emploie le glucose dans la proportion de 2 grammes par litre.

Ainsi, malgré les imperfections de la méthode, ces expériences préliminaires permettent d'affirmer que *les racines de Maïs absorbent le glucose.*

3° La comparaison des chiffres obtenus dans les deux séries 4

Digitized by Google

et 5 conduit à des conclusions importantes que j'utiliserai plus loin. Non-seulement l'absorption de l'eau par les racines diminue à l'obscurité, ce que l'on savait depuis longtemps, mais le poids de glucose qui pénètre dans la plante décroît en même temps dans des proportions sensibles.

Prenons par exemple les expériences *a* et *a'*; elles indiquent que l'absorption de glucose en 24 heures est passée de 0 gr. 662 le 6 juin à 0 gr. 729 le 8 juin sous l'influence d'une température légèrement plus élevée, de telle sorte que les plantes des expériences *b'* et *c'* auraient dû absorber respectivement $\frac{0,602 \times 729}{662} = 0$ gr. 663 et $\frac{0,615 \times 729}{662} = 0$ gr. 667 si elles avaient été maintenues à la lumière dans la seconde série (1).

L'absence de lumière a donc eu pour effet de diminuer de 0 gr. 157, soit d'environ un quart de sa valeur, la consommation de glucose dans le premier cas et de 0 gr. 109 dans le second; et si l'on remarque que dans la série 5, les plantes de l'expérience *a'* ont été à l'obscurité pendant 8 heures de nuit, on verra qu'il a suffi de 16 heures d'éclairement pour accroître des chiffres donnés la consommation journalière de glucose. Enfin la suppression de la chlorovaporisation a réduit au tiers de sa valeur environ la quantité d'eau absorbée par les racines.

Ainsi *les circonstances qui activent l'absorption de l'eau activent également l'absorption du glucose*, sans qu'il y ait proportionnalité entre les poids d'eau et de glucose qui pénètrent dans la plante.

2° *Cultures en milieux stérilisés*

Les diverses méthodes générales de culture en milieux stérilisés décrites plus haut ont été appliquées au cas particulier du glucose.

1° *Du 19 août 1896.* Dans un flacon à large ouverture d'un demi-litre de capacité, j'introduis 5 gr. de glucose anhydre pur pour 350 cmc. de liqueur Detmer; un filet de soie destiné à soutenir les

(1) Un tel raisonnement n'est pas absolument rigoureux car il n'est nullement démontré que les variations d'état hygrométrique, de température, d'éclairement, etc., agissent exactement de la même manière sur toutes les plantes d'une même espèce et à toutes les phases de la végétation; il est vraisemblable cependant qu'à la lumière les plantes des expériences *b'* et *c'* auraient absorbé le 8 juin des poids de glucose plus élevés que le 6, et la remarque précédente n'enlève rien à la rigueur des conclusions que nous voulons tirer.

Digitized by Google

graines flotte à la surface du liquide. Le flacon est fermé par un tampon de coton puis stérilisé à l'autoclave à la température de 120°. Après refroidissement j'ensemence deux graines de Maïs cinquantini pesant ensemble 0 gr. 325 et préalablement immergées pendant 2 heures dans une solution de sublimé à $\frac{1}{500}$. Le flacon est placé sur un plateau de verre puis recouvert d'une cloche à 3 tubulures de 8 litres de capacité et reposant sur le plateau par l'intermédiaire de 3 petits cubes de bois passés dans la flamme d'un brûleur ; cloche et plateau ont été lavés au sublimé ; enfin du coton stérilisé ferme toutes les ouvertures.

Le 19 septembre, c'est-à-dire après 31 jours de végétation, les deux plantes sont vigoureuses et il reste 292 cmc. de liquide ; avec une pipette stérilisée, j'en prélève 2 cmc. qui sont répartis dans 9 tubes contenant les uns du bouillon, les autres de la gélose ou de la gélatine nutritives. A l'aide de ciseaux flambés, je détache également un fragment de racine qui est immergé dans la gélose maintenue en surfusion vers 38°. Portés à l'étuve, ces divers milieux de culture restent stériles.

Le flacon et les racines sont lavés à l'eau distillée et le volume est ainsi ramené à 496 cmc. 5, soit à 500 cmc. en tenant compte des 2 cmc. prélevés. On dose le glucose à l'aide d'une liqueur de Fehling telle que 10 cmc. sont réduits par 0 gr. 053 de glucose ; le titrage de cette liqueur a été fait la veille à l'aide d'une solution de Detmer renfermant un pour cent de glucose anhydre pur, et la fin de la réaction a été déterminée à l'aide du ferrocyanure de potassium.

10 cmc. de la liqueur de Fehling sont décomposés par 6 cmc. 1 de la liqueur de culture qui renferme ainsi $\frac{0.053 \times 500}{6,1} = 4$ gr. 344 de glucose, avec une erreur qui ne dépasse pas 7 centigrammes.

L'absorption a été de

$$5 \text{ gr.} - 4,344 = 0 \text{ gr. } 656$$

Comme vérification, un flacon semblable a reçu également 5 gr. de glucose pour 350 cmc. de liqueur Dekner ; stérilisé à l'autoclave dans les mêmes conditions que le précédent, il a été placé sous la même cloche pendant la durée de l'expérience ; le dosage a permis de retrouver exactement 5 gr. de glucose.

Le poids frais des deux pieds de Maïs est de

Digitized by Google

Tige et feuilles.	6 gr. 987
Graines	0 gr. 370
Racines	2 gr. 585
Total	9 gr. 942

Ces plantes desséchées à l'étuve à la température de 110° tant que le poids varie entre deux pesées consécutives ont donné pour le poids sec :

Tige et feuilles.	0 gr. 466
Graines	0 gr. 147
Racines	0 gr. 166
Total.	0 gr. 779

et 0 gr. 632 pour les plantules.

Ainsi le poids de glucose absorbé représente 4 fois le poids sec des racines, il est supérieur au poids sec des plantules.

2° Deux graines de Maïs cinquantini de même poids que les précédentes sont ensemencées à la même date dans 350 cmc. de liqueur Detmer renfermant 1 gr. 967 de glucose. Le 19 septembre l'analyse indique 1 gr. 449 de glucose ; l'absorption a été de

1 gr. 967 — 1.449 = 0 gr. 518

Le poids des plantules n'a pas été déterminé.

Du 19 juin 1897. Deux graines de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 510 sont ensemencées le 3 juin dans 250 cmc. de liqueur Detmer additionnés de 4 gr. de glucose. Le 19 juin les deux graines se sont développées et chaque pied de Maïs atteint environ 0 m. 20 de hauteur. Le poids frais des plantules est de 4 gr. 250 ainsi répartis :

Tige et feuilles	2 gr. 310
Graines	0 gr. 555
Racines	1 gr. 385
Total	4 gr. 250

correspondant à 0 gr. 580 de poids sec.

Avec une pipette flambée, on prélève 2 cmc. de liqueur qui sont répartis dans 7 tubes de gélose peptonisée; placés à l'étuve à la température de 33°, ces tubes restent stériles.

Le dosage par la liqueur de Fehling indique 3 gr. 676 de glucose ; le poids de sucre absorbé en 16 jours de végétation a été de

4 gr. — 3 gr. 676 = 0 gr. 324.

Digitized by Google

4° *Du 19 juin 1897.* — Une expérience identique à la précédente a été faite dans les mêmes conditions avec deux graines de Maïs pesant ensemble 0 gr. 560; mais l'une d'elles ne germe pas et la seconde cesse de se développer après que la radicule a atteint 2 centimètres de longueur. L'analyse indique que le poids de glucose n'a pas changé.

5° *Du 3 août 1897.* — Le 13 juillet deux graines de Maïs dent de cheval sont ensemencées après stérilisation dans 350 cmc. de liqueur Detmer renfermant 1 gr. 721 de glucose. Une seule graine se développe et le 3 août il reste 1 gr. 672 de glucose; l'absorption a été de 0 gr. 049 en 21 jours. Le développement de la plante a d'ailleurs été très faible puisque le poids frais était de 1 gr. 590 dont

0 gr. 210 pour les racines
0 gr. 510 — la graine
0 gr. 870 — la tige et les feuilles

Après dessiccation à l'étuve j'ai obtenu

Racines	0 gr. 020
Graine	0 gr. 223
Tige et feuilles.	0 gr. 065
Total.	0 gr. 308

Quoique le poids des graines n'ait pas été déterminé avant l'expérience, on peut voir qu'il était élevé et que la plantule n'a pris qu'un faible développement, ce qui explique la petite quantité de glucose absorbé.

6° *Du 24 août 1897.* — Le 5 août j'ai ensemencé deux graines de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 565 dans un volume indéterminé de liqueur Detmer contenant exactement 2 gr. de glucose. Le 24 août les deux graines se sont développées et le poids des plantules se décompose ainsi :

	Poids frais.	Poids sec.
Graine	0 gr. 523	0 gr. 305
Tige et feuilles . .	2 gr. 898	0 gr. 255
Racines	0 gr. 618	0 gr. 125
Total. .	4 gr. 039	0 gr. 685

Les plantes ont absorbé en 19 jours 0 gr. 417 de glucose.

Digitized by Google

7° *Du 4 septembre 1897.* — Le 5 août j'ai mis en germination deux graines identiques de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 755 dans une solution contenant 1 gr. 212 de glucose pour 250 cmc. de liqueur Detmer. Le 4 septembre, après 30 jours de végétation, un seul pied développé pèse frais 5 gr. 070 ainsi répartis :

Graine	0 gr. 420
Tige et feuilles . .	3 gr. 150
Racines	1 gr. 500
Total. .	5 gr. 070

La plante a été conservée pour l'étude anatomique et le poids sec n'a pu être déterminé.

Il reste d'après l'analyse 0 gr. 919 de glucose : le poids de sucre absorbé a donc été de 0 gr. 203.

Ce chiffre très faible, comparativement à la durée de l'expérience, est en rapport avec le poids considérable de la graine, la plante absorbant d'autant moins par ses racines qu'elle trouve à sa disposition des réserves plus abondantes.

8° *Du 12 octobre 1897.* — Le 5 août deux graines identiques de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 632 sont ensemencées dans un flacon à deux tubulures renfermant 2 litres de liqueur Detmer additionnés de 10 grammes de glucose. L'une des graines tombe au fond du liquide et n'entre pas en développement; la seconde donne une plante vigoureuse dont la végétation a pu être maintenue jusqu'au 12 octobre. J'ai obtenu pour le poids de la plante :

	Poids frais	Poids sec
Graine.	0 gr. 430	0 gr. 190
Tige et feuilles . . .	2 gr. 960	0 gr. 430
Racines	1 gr. 000	0 gr. 060
Total. . .	4 gr. 390	0 gr. 680

A l'aide d'un siphon placé dans l'une des tubulures, j'ai soutiré dans un flacon stérilisé 208 gr. 5 de liquide qui ont été conservés à l'étuve à la température de 22°. Il reste en outre 1629 gr. de liqueur; le poids total était donc de 1837 gr. 5 renfermant d'après les résultats de l'analyse 9 gr. 415 de glucose. L'absorption a été de 10 gr. — 9,415 = 0 gr. 585

Digitized by Google

Le 3 novembre, les 208 gr. 5 de la solution qui devaient renfermer au 12 octobre 1 gr. 070 de glucose donnent à l'analyse 1 gr. 068; autrement dit la liqueur ne s'est pas altérée malgré un séjour à l'étuve de 22 jours; elle était donc bien stérile.

9° *Du 12 octobre 1897.* — Je rapprocherai de l'expérience précédente un résultat relatif à l'absorption du sucre interverti et obtenu dans les mêmes conditions. L'essai avait été entrepris dans le but d'étudier l'absorption du sucre de canne; mais un accident survenu au témoin n'a pas permis de déterminer la proportion de sucre interverti par le passage à l'autoclave.

Le 11 août deux graines de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 530 sont ensemencées dans un flacon à deux tubulures contenant 2200 cmc. de liqueur Detmer pour 20 grammes de sucre de canne. Une seule graine entre en germination, mais la plante prend un développement considérable, et le 12 octobre, elle atteint le sommet de la cloche; les racines très vigoureuses sont couvertes de poils absorbants sur une longueur de 12 centimètres.

A l'aide du siphon, je prélève dans un flacon stérilisé 167 gr. 5 de liqueur qui sont placés à l'étuve à 22° jusqu'au 3 novembre suivant. Il reste en outre 1911 cmc. de liquide, de sorte que le volume total était de 2078 cmc. 5 renfermant. d'après les résultats de l'analyse, 2 gr. 834 de sucre interverti et un poids total de matières sucrées correspondant à 19 gr. 276 de sucres réducteurs.

Les 20 grammes de saccharose correspondant à 21 gr. 052 de sucre interverti, l'absorption a été de

21,052 — 19,276 = 1 gr. 776 évaluée en sucre interverti.

Le liquide prélevé est analysé le 3 novembre ; sa composition n'a pas changé; il était donc parfaitement stérile.

J'ai trouvé pour le poids de la plante :

	Poids frais	Poids sec
Graine	0 gr. 460	0 gr. 260
Tige et feuilles	8 gr. 750	0 gr. 880
Racines	6 gr. 470	0 gr. 256
Total. . . .	15 gr. 680	1 gr. 396

Le tableau suivant résume l'ensemble des résultats obtenus dans les expériences précédentes.

Digitized by Google

Numéros des expériences	Poids des graines ensemencées	Durée de la végétation	Poids de glucose contenu dans 1 litre de liqueur	Poids sec des plantules	Poids de glucose absorbé
1	0 gr. 325	31 jours	14 gr. 28	0 gr. 632	0 gr. 656
2	0 — 325	31 —	5 — 71	»	0 — 518
3	0 — 510	16 —	16 — 0	0 — 285	0 — 324
5	»	21 —	5 — 0	0 — 085	0 — 049
6	0 — 565	19 —	»	0 — 380	0 — 417
7	0 — 755	30 —	4 — 84	»	0 — 203
8	0 — 632	68 —	5 — 0	0 — 490	0 — 585
9	0 — 530	62 —	10 — 0	1 — 136	1 — 776

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

FORMATION DES ASQUES

ET DE

L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES

par M. A. GUILLIERMOND.

L'épiplasme des Ascomycètes n'a guère été étudié que par Errera (1) ; cet auteur s'était préoccupé uniquement de rechercher le glycogène et n'a envisagé la question qu'au point de vue chimique : aussi malgré l'importance de ses observations, il restait encore à faire l'étude histologique de l'épiplasme et cette étude était d'autant plus intéressante qu'elle pouvait contribuer à éclaircir certains problèmes encore confus de la cytologie. Ce sont ces considérations qui nous ont engagé à reprendre cette question.

Nous avons déjà fait connaître, dans un précédent article (2), les premiers résultats de nos recherches. Nous avions attiré l'attention sur l'existence des corpuscules métachromatiques dans l'épiplasme de certains Ascomycètes (*Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboloides* (3), *Peziza coccinea*, *Exoascus deformans*, *Taphryna aurea*) ; nous avions montré que ces corpuscules naissent dans les cellules mères des asques, puis, s'agglomèrent autour des spores, dans les asques, pour être finalement absorbées par elles. Nous

(1) Errera : *L'Epiplasme des Ascomycètes*. — Bruxelles, 1882.

(2) Guilliermond : *Contribution à l'étude des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons*. — Annales mycologici., vol. I, n° 3, 1903

(3) Ce genre nouveau avait été signalé par nous comme une espèce voisine de l'*Amauroascus* avec lequel il offrait quelques ressemblances. Depuis, M. Boudier l'a désigné sous le nom de *G. saccaboloides* — Boudier, Bull. de la Soc. mycol. de France, 1904.

Digitized by Google

avions donc considéré ces corpuscules métachromatiques comme produits de nutrition (grains de zymogène et, ou plus probablement, matières de réserve). Nous avions observé les mêmes faits dans les asques des levûres (1). Dans d'autres espèces (*Otidea leporina, Tuber melanosporium*), nous avions remarqué l'absence de ces corpuscules, mais nous avions trouvé à leur place, en dehors du glycogène, qui existait dans toutes les espèces étudiées, une abondante production de globules d'huile de réserves.

Dans une note publiée quelque temps avant cet article, Conte et Vaney (2) avaient signalé, dans l'*Opalina intestinalis*, Protozoaire, parasite de l'intestin du Triton, des granulations qu'ils avaient identifiées aux corpuscules métachromatiques et qu'ils considéraient comme des grains de zymogène ; ils avaient montré que ces corpuscules dérivaient de la chromatine du noyau qui, à certains stades, se perforait et paraissait se vider en expulsant son contenu dans le cytoplasme. Ikéno (3), dans un travail plus récent encore, a observé des faits du même ordre dans les Exoascées. Ces observations avaient paru jeter un doute sur l'interprétation que nous avions donnée de la structure des levûres, où nous avions distingué un noyau bien caractérisé et des corpuscules métachromatiques, productions cytoplasmiques indépendantes du noyau. Nous avions cependant déjà montré, dans notre premier article, que dans l'*Ascobolus marginatus*, les corpuscules métachromatiques naissaient dans les cellules mères des asques aux dépens du cytoplasme et en dehors du noyau. Nous avions observé pourtant qu'ils se formaient très souvent au voisinage du noyau et que ce dernier pouvait avoir une influence sur leur élaboration. Mais les cellules de cette espèce étaient trop petites pour que nous ayons pu nous prononcer définitivement sur cette question.

Aujourd'hui, nous nous proposons d'y revenir et d'étudier surtout la naissance des corpuscules métachromatiques dans les cellules mères des asques et les rapports qu'ils peuvent présenter avec le noyau dans un certain nombre d'espèces qui, par la dimen-

(1) Guilliermond : *Recherches cytologiques sur les levûres.* — Storck, éditeur, Lyon, 1902.

(2) Conte et Vaney : *Sur des émissions nucléaires observées chez les Protozoaires.* (C. r. de l'Acad. Sciences, janvier 1903).

(3) Ikéno, Flora, 1903.

Digitized by Google

sion élevée de leur cellule, présentent plus de commodité que *l'A. marginatus*. Enfin, nous étendrons, en même temps, nos observations sur l'épiplasme à d'autres Ascomycètes et nous essayerons d'éclaircir davantage le rôle des corpuscules métachromatiques.

I. — TECHNIQUE

Nous avions souvent employé comme fixateur, dans nos précédentes recherches, l'alcool à 90°. Les nouvelles observations que nous avons faites nous ont montré que ce procédé, qui offre de grands avantages dans les colorations des corpuscules métachromatiques, avait cependant pour les Ascomycètes l'inconvénient de contracter le noyau et de rendre difficile sa différenciation : généralement, les colorations faites après fixation à l'alcool ne laissent distinguer que le nucléole entouré d'une zone de nucléohyaloplasme, sans chromatine et sans membrane, et peuvent exposer ainsi à de graves erreurs. C'est grâce à ce procédé que nous n'avions pas pu parvenir à observer la structure des noyaux de l'*Otidea leporina* dans nos précédentes recherches ; de nouvelles préparations fixées par d'autres procédés nous ont montré depuis que les noyaux de cette espèce possédaient une structure analogue à celles que nous avions décrites dans les autres. Nous avons substitué à cette méthode le picroformol de Bouin (1), modifié par Maire, et le Flemming. Nous avons toujours divisé chacun de nos objets en deux lots : l'un fixé au picroformol, l'autre au Flemming, ce dernier est très favorable à l'observation de la structure du noyau et de sa division ; il permet, en outre, l'étude des globules d'huile, mais il entrave la coloration des corpuscules métachromatiques ; le picroformol, au contraire, peut être employé pour la différenciation de ces derniers.

Nous nous sommes servi comme colorant, après fixation au Flemming, de la safranine lichtgrün (2), de la diamant-fuchsine

(1) Formol à 40 °/₀, 30 gr. ; Acide acétique cristallisable, 5 gr. ; Eau distillée, 20 gr. ; Picroformol à saturation.

(2) On colore quarante-huit heures à la safranine ; on lave à l'alcool et on régresse au lichtgrün.

Digitized by Google

lichtgrün (1), du bleu polychrome de Unna (2) et surtout de l'hématoxyline ferrique, et, après fixation au picroformol, du bleu polychrome et de l'hémalun. Le bleu polychrome, après fixation au picroformol, teint le noyau et le cytoplasme en bleu et donne de belles colorations des corpuscules métachromatiques en rouge, mais la différenciation du noyau est toujours incomplète. L'hémalun colore, au contraire, très nettement le noyau, mais les corpuscules métachromatiques, qu'il différencie très bien après fixation à l'alcool, se distinguent plus difficilement après le picroformol. Le bleu polychrome, après fixation au Flemming, produit de bonnes différenciations du noyau, de même que la safranine lichtgrün et la diamant-fuchsine lichtgrün, mais le meilleur procédé est l'hématoxyline ferrique. Il y a avantage à colorer le cytoplasme au lichtgrün après la régression à l'alun de fer ammoniacal.

Nous avons étudié les espèces suivantes : *Aleuria cerea*, *Aleuria olivea*, *Aleuria amplissima*, *Aleuria abietina*, *Acetabula vulgaris*, *Peziza tuberosa*, *Peziza venosa*, *Peziza Catinus*, *Pyronema confluens*. *Otidea onotica*, *Ciboria echinophila*, *Geoglossum viride*, *Leotia lubrica*, *Bulgaria inquinans*, *Helvella sulcata*, *Helvella elestica*, *Helv. crispa*, *Ascophanus aurora*, *Hypocopra fumicola*, *Elaphomyces granulatus* et une Pezize ressemblant extérieurement à l'*Aleuria cerea*, dont nous n'avions malheureusement que des échantillons trop jeunes pour permettre sa détermination ; nous la désignerons donc sous le nom de *Peziza* (*species*) (3).

II. — ALEURIA CEREA

L'espèce qui a été la plus favorable à l'étude de la formation des corpuscules est l'*Aleuria cerea* (Sow.) dont nous avons pu suivre tout le développement des asques.

A. Formation des cellules mères des asques. — Les cellules mères des asques dérivent chacune d'un filament renfermant

(1) On colore de une à cinq minutes dans la diamant-fuchsine ; on lave à l'eau, puis on régresse dans une solution alcoolique saturée de lichtgrün, en surveillant au microscope ; on lave ensuite à l'alcool à 95°.

(2) On colore un quart d'heure ou vingt minutes au bleu polychrome ; on lave à l'eau et on régresse au glycerinœtermischung en surveillant sous le microscope.

(3) Nous adressons tous nos remerciements à M. Boudier à qui nous devons un certain nombre de ces espèces.

Digitized by Google

d'abord deux noyaux ; ce filament se recourbe en crosse et les deux noyaux subissent chacun une bipartition ; deux des nouveaux noyaux (les deux du milieu) se placent dans la partie bombée et les deux autres dans chacune des deux branches de la crosse. La partie bombée de la crosse se délimite par une cloison en une cellule à deux noyaux, puis les deux noyaux se fusionnent et la cellule s'allonge pour devenir la cellule mère d'un asque. Le développement de cette espèce est donc analogue à celui décrit par Dangeard dans *Peziza vesiculosa* (1) (Fig. 10).

B. — Origine des corpuscules métachromatiques. — Les corpuscules métachromatiques apparaissent dès l'origine des cellules mères des asques. Celles-ci, à leur début, sont formées, dans leur portion supérieure, d'un cytoplasme très dense et homogène dans lequel est situé le noyau, et, dans leur moitié inférieure, d'un cytoplasme alvéolaire (pl. 8, fig. 1 à 5). Un peu plus tard, la partie supérieure se creuse également d'alvéoles, de sorte que les cellules comprennent alors une bande étroite de cytoplasme médian, homogène, renfermant le noyau, et partout ailleurs un cytoplasme alvéolaire, sauf à l'extrémité supérieure où subsiste quelque temps une calotte de cytoplasme homogène (pl. 8, fig. 6 à 15). C'est dans les mailles des alvéoles qu'apparaissent les corpuscules métachromatiques qui semblent résulter de leur transformation, car, dans les cellules plus âgées et dans l'épiplasme, le cytoplasme a disparu en grande partie et les corpuscules métachromatiques affectent souvent l'aspect d'un recticulum, s'étant substitué au réseau cytoplasmique primitif. Souvent, comme nous l'avions déjà remarqué dans l'*A. marginatus* et dans la *Guilliermondia saccaboloïdes*, le noyau est directement en contact avec le cytoplasme alvéolaire de l'un

Fig. 10. — Formation des cellules mères des asques de l'*Aleuria cerea* (Flemming, hématoxyline ferrique). Gross. 1100.

(1) Dangeard : *La reproduction sexuelle des Ascomycètes*. — Le Botaniste, 4e série, 1894.

Digitized by Google

des deux pôles et les corpuscules métachromatiques paraissent surtout naître à son voisinage. A un stade un peu plus avancé, la cellule se vacuolise de plus en plus et le noyau apparaît au milieu d'un cytoplasme entièrement alvéolaire, entouré seulement par une très légère zone de cytoplasme homogène, ou, même seulement, par un réseau cytoplasmique un peu plus resserré que dans le reste de la cellule. Le noyau, subissant la pression des vacuoles situées à ses deux extrémités longitudinales, s'aplatit, prend une forme plus ou moins discoïdale que nous avons représentée dans la figure 15, pl. 8 ; il est entouré d'un grand nombre de corpuscules métachromatiques et l'on pourrait croire qu'il subit un commencement de chromatolyse en rapport avec la sécrétion de ces corpuscules, mais ce n'est là qu'une apparence.

C. — Structure du noyau. — Les colorations au bleu polychrome, après fixation au picroformol, sont très favorables à cette étude ; le noyau ne se différencie cependant qu'incomplètement. Il apparaît formé d'un nucléoplasme incolore et d'un nucléole coloré en bleu foncé avec une vacuole médiane : la membrane et le filament chromatique sont invisibles ; néanmoins on se rend compte que le noyau ne participe pas directement à la formation des corpuscules métachromatiques qui sont toujours en dehors du noyau et s'en distinguent par leurs teintes rouges. D'ailleurs, le noyau, malgré son absence de membrane, montre toujours un contour régulier bien délimité et sans communication avec le cytoplasme. Dès l'origine des cellules mères, on peut assister à la naissance des corpuscules métachromatiques, et si dans beaucoup de cas le noyau se trouve en communication avec le cytoplasme alvéolaire, siège de leur élaboration, il arrive souvent aussi qu'il en soit nettement séparé par une zone plus ou moins épaisse de cytoplasme homogène, ce qui empêche de lui attribuer un rôle précis dans cette sécrétion (pl. 8, fig. 1 et 3). L'hémalun permet de différencier tous les détails de structure du noyau : une membrane très nette, un réseau chromatique assez grêle, rempli de granules de nucléine fortement colorés, et un nucléole avec une vacuole médiane. Les corpuscules métachromatiques se colorent en même temps plus ou moins distinctement, et se montrent toujours en dehors du noyau. Quant au peu de chromaticité que présente le noyau avec le bleu

Digitized by Google

polychrome, caractère sur lequel nous avions attaché une certaine importance dans notre dernier article, pensant qu'il pouvait indiquer un rôle du noyau sur la sécrétion, il ne peut plus être désormais mis en ligne de compte, car des observations faites sur divers végétaux et animaux nous ont prouvé depuis que le bleu polychrome, après fixation au picroformol ou à l'alcool, donne toujours de très faibles colorations du noyau. Le bleu polychrome, l'hématoxyline ferrique, après fixation au Flemming, différencient aussi la membrane nucléaire et la chromatine, mais la coloration des corpuscules métachromatiques est entravée par la fixation. — L'hématoxyline ferrique surtout donne de très belles colorations du noyau. Remarquons cette particularité, qu'après fixation au Flemming, le nucléole présente quelquefois un aspect alvéolaire (Pl. 9, fig. 9). Ces derniers procédés nous ont permis d'affirmer que le noyau ne subit aucune modification de structure pendant tout le développement des cellules mères des asques et que les corpuscules métachromatiques ne naissent jamais à ses dépens. Il présente à tous les stades une structure analogue, avec réseau chromatique rempli de granulations et membrane aussi distincte et toujours la même chromaticité, même dans les cas où il est aplati par la pression des vacuoles (Pl. 9, fig. 1 à 9). Toutefois, le réseau chromatique se montre toujours acidophile dans les noyaux des filaments destinés à former les asques, des cellules mères des asques et des spores ; seul le nucléole est basophile. Le réseau se colore, en effet, par le lichtgrün, tandis que le nucléole fixe la diamant-fuchsine ou la safranine, dans les colorations à la diamant-fuchsine lichtgrün ou à la safranine lichtgrün. L'hémalun et l'hématoxyline ferrique différencient cependant nettement le réseau chromatique. Les corpuscules métachromatiques et les globules d'huile sont basophiles et se colorent par la diamant-fuchsine, mais pas par la safranine. Dans la karyokinèse, les chromosomes et les centrosomes sont basophiles. Les noyaux du pseudoparenchyme nous ont paru être basophiles, mais, comme ils sont très petits et très pauvres en chromatine, on ne peut pas en avoir la certitude. On sait que Maire a constaté dans les cellules mères des basides que le noyau, normalement basophile, devenait acidophile pendant une sécrétion de granulations basophiles qui s'effectue dans leur développement ; il en conclut à une action du noyau sur la sécrétion. Il est difficile,

Digitized by Google

ici, de voir une relation entre cette particularité du réseau chromatique d'être acidophile et la sécrétion des corpuscules métachromatiques, car cette réaction existe dans toutes les espèces, aussi bien dans celles qui élaborent des corpuscules métachromatiques et sont dépourvues de globules d'huile, que dans celles qui possèdent de l'huile et pas de corpuscules métachromatiques.

D. *Karyokinèse.* — Ces procédés de coloration nous ont permis, en outre, d'étudier la division du noyau qui s'effectue par une karyokinèse analogue à celles qu'ont décrites Gjurasin (1) et Harper (2). Au moment où commence la division nucléaire, la cellule est toujours alvéolaire à ses deux pôles avec une grande abondance de corpuscules métachromatiques, mais, il s'est reconstitué, à son centre, une zone assez épaisse de cytoplasme très dense et homogène, renfermant le noyau qui a alors perdu contact avec le cytoplasme alvéolaire. La prophase paraît débuter par la formation d'une masse faiblement colorable qui se place à côté du nucléole et qui paraît être l'origine du fuseau achromatique. en même temps on voit apparaître les chromosomes sous forme de petites granulations situées dans cette masse achromatique (pl. 9, fig. 10). A un stade ultérieur, il se forme un fuseau achromatique qui traverse le noyau et qui est relié à chaque pôle par un centrosome arrondi, très nettement caractérisé, généralement logé dans une petite échancrure du noyau et entouré d'un aster plus ou moins difficile à différencier (pl. 9, fig. 11 à 14). Les centrosomes apparaissent simultanément avec le fuseau achromatique et il n'est pas possible de se rendre compte de leur origine. Dans certains cas, le fuseau paraît n'occuper qu'une partie de la longueur du noyau, aboutissant à deux centrosomes situés dans l'intérieur du noyau, ce qui pourrait faire croire qu'ils ont comme le fuseau une origine intranucléaire, mais il est possible que ce soit là une illusion d'optique, qui proviendrait de ce que le fuseau est situé obli-

(1) Gjurasin : *Uber die Kernteilung in den Schlausen von Peziza vesiculosa* (Ber. d. deutsch. bot Ges., 1893).

(2) Harper : *Beitrag zur Kennitniss der Kerntheilung und sporenbildung in Ascus.* (Ber. d. deustch, bot. Ges. 1894). — Kernth. und freie Zell. im Ascus (Jahr. f. viss. Botannik Bd. XIX). *Division in Sporangia and asci* (Ann. of Botany 1899). — *Sexual reproduction in Pyronema confluens* (Ann. of Botany 1901).

Digitized by Google

quement par rapport au rayon visuel (Pl. 9, fig. 11 et 13). Les chromosomes s'alignent sur la partie médiane du fuseau achromatique, dès son apparition. Leur petite taille ne permet pas d'étudier la métaphase et de se rendre compte du mode suivant lequel ils se divisent, mais nous avons pu suivre les principaux stades de l'anaphase : les chromosomes se dirigent vers les deux pôles du fuseau et ils apparaissent souvent assez distinctement pour qu'on puisse les compter. Dans toutes les figures que nous avons rencontrées représentant ce stade, le nombre des chromosomes a pu être évalué à 8 ; (Pl. 9, fig. 15 à 17). Pendant tous ces phénomènes, le noyau ne change pas de forme et sa membrane et son nucléole persistent. Ce n'est qu'à ce moment qu'il s'allonge, tandis que le fuseau se rétrécit ; puis les chromosomes se réunissent en deux masses uniformes placées aux 2 pôles ; en même temps les asters cessent d'être visibles (Pl. 9. fig. 18). Dans plusieurs préparations, nous avons rencontré des figures de ce stade assez curieuses : le nucléole était placé très près de l'une des masses chromatiques et paraissait relié à elle par un mince filet très coloré (Pl. 9, fig. 19). Il nous est impossible, pour le moment, d'interpréter cette particularité. Un peu plus tard, le fuseau achromatique s'allonge (Pl. 9, fig. 20 et 21), la membrane disparaît, ainsi que le nucléoplasme, et le fuseau et les deux masses chromatiques se transforment en deux très petits noyaux ; dans leur intérieur, on voit bientôt apparaître un nucléole. Le nucléole du noyau père subsiste parfois très longtemps après la formation des deux noyaux filles, un peu déformé et entouré d'une mince zone claire provenant du nucléohyaloplasme du noyau primitif (Pl. 9, fig. 23).

Les nouveaux noyaux grossissent et apparaissent bientôt avec une structure identique à celle du noyau primitif. La première division ainsi que la suivante s'effectuent presque constamment suivant l'axe longitudinal de la cellule ; les autres se font, au contraire, tantôt parallèlement, tantôt perpendiculairement à l'axe longitudinal. Ces divisions sont absolument identiques à la première, mais dans la troisième, les centrosomes et les asters subsistent après la formation des noyaux fils (Pl. 9, fig. 24 à 26). Pendant ces divisions successives, le cytoplasme médian se creuse, par places, de petites vacuoles où apparaissent des corpuscules métachro-

Digitized by Google

matiques (Pl. 8, fig. 16). La division du noyau se fait simultanément à la sécrétion des corpuscules métachromatiques : le travail élaborateur et le travail cinétique peuvent donc coexister comme l'a récemment signalé Maire (1) dans les Basidiomycètes et, contrairement à la loi formulée par Prenant (1) « toute cellule qui se divise est incapable de produire et ne fonctionne pas ».

D. Formation des spores et absorption de l'épiplasme. — A la fin de ces divisions successives, les cellules possèdent toujours la même structure qu'au moment de la division, avec deux pôles alvéolaires et, au centre, un cytoplasme homogène : ce cytoplasme alvéolaire est seulement creusé par des petites vacuoles. Les noyaux, au nombre de huit, sont d'abord très petits ; ils se placent ordinairement, sur les deux côtés latéraux de la cellulle, le long de sa membrane, avec chacun un centrosome entouré d'un aster appliqué contre cette membrane (Pl. 9, fig. 27) ; un peu plus tard les noyaux ont un peu grossi et les fibres de l'aster se recourbent autour du noyau pour contribuer à la formation et à la délimitation des spores, comme l'avait déjà décrit Harper (Pl. 9, fig. 28). En même temps que cette délimitation se produit, la vacuolisation du cytoplasme médian qui n'a pas été employé à la formation des spores continue à s'effectuer, de même que la sécrétion des corpuscules métachromatiques. Les spores, d'abord très petites, augmentent peu à peu de volume et s'entourent d'une paroi cellulosique ; leur noyau s'accroît et finit par devenir énorme ; il est entouré d'une zone médiane de cytoplasme homogène, tandis que les deux pôles sont alvéolaires et élaborent des corpuscules métachromatiques. Elles sont d'abord entourées d'un grand nombre de corpuscules métachromatiques provenant de la désagrégation des mailles de cytoplasme alvéolaire; ces corpuscules s'agglomèrent autour des spores et sont finalement absorbées par elles (Pl. 8, fig. 17 et 18). Dans aucun stade du développement, nous n'avons pu mettre en évidence des globules d'huile ; le glycogène est très abondant et se forme surtout dans le cytoplasme médian. L'épiplasme provient donc non seulement du cytoplasme alvéolaire des deux pôles des cellules mères des asques, mais aussi d'une partie du plasme sporogène, et,

(1) Maire : *Recherches cytolog. sur les Basidiomycètes* (Bull. de la Soc. mycol. de France, 1902).

Digitized by Google

comme nous l'avons constaté déjà dans l'*A. marginatus*, il n'y a pas de distinction très tranchée entre le plasme sporogène et l'épiplasme ou plasme nourricier.

Signalons enfin une dernière particularité : il existe, en dehors du glycogène, à la partie supérieure de chaque asque, un anneau d'amyloïde se colorant en bleu par l'iodo-iodure de Potassium. Cette production qu'on observe dans toutes les espèces d'Aleuriées et dans *P. vesiculosa* et *P. venosa*, a été considérée jusqu'ici comme une matière de réserve au même titre que le glycogène. Nous ne contestons pas qu'il s'agisse de matières de réserve dans certains Ascomycètes où toute la paroi de l'asque est imprégnée d'amyloïde ou dans les Schizosaccharomyces dont l'épiplasme ne montre aucune trace de glycogène et dont les spores sont recouvertes d'une couche d'amyloïde, qui disparaît au moment de leur germination, comme nous l'avons nous-même constaté; mais dans *P. vesiculosa*, dans *P. venosa* et dans les Aleuriées, bien que cet anneau d'amyloïde apparaisse déjà avant la formation des asques dans les cellules mères, nous croyons qu'il ne constitue pas un produit de réserve, mais qu'il est dû à une transformation de la cellulose qui faciliterait la déhiscence de l'asque. En effet, cet anneau d'amyloïde subsiste dans les asques dont les spores ont atteint leur maturité et ont absorbé tout l'épiplasme, et c'est suivant sa ligne médiane que se fait la déhiscence. Après l'ouverture de l'opercule, il subsiste, en effet, sur le pourtour de l'ouverture des asques, une zone d'amyloïde, et l'opercule est également bordée d'amyloïde, ce qui semble bien prouver que l'anneau d'amyloïde a un rôle dans l'ouverture de l'asque (fig. 11).

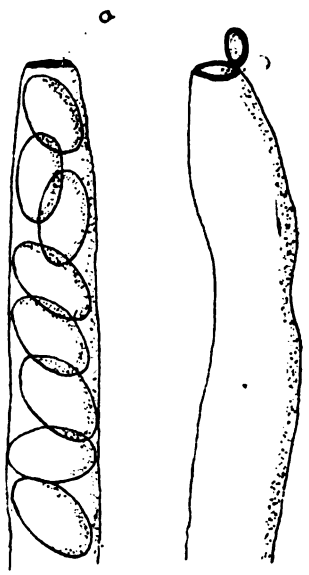


Fig. 11. — *Pziza vesiculosa*. *a*, anneau d'amyloïde; *D*, ouverture de l'asque suivant la ligne médiane de l'anneau d'amyloïde; les spores sont expulsées de l'asque et l'amyloïde persiste.

Digitized by Google

AUTRES ESPÈCES

A. — Formation des cellules mères des Asques. — Nous avons pu suivre la formation des cellules mères des asques dans les espèces suivantes : *Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboïdes*, *Aleuria cerea* *Aleuria olivea*, *A. amplissima*, *Acet. vulgaris*, *Hel sulcata*, *H. elastica*, *H. crispa*, *Ciboria echinophila*, *Bulg. inquinans*, *Ot. onotica*. Dans toutes ces espèces, à l'exception de *P. (species)* elle paraît s'effectuer suivant le procédé que nous avons décrit dans l'*Al. cerea*. Par contre, dans *P. (species)*, nous avons observé un mode particulier de formation des cellules mères ; ces dernières naissent d'un filament, à deux noyaux accolés l'un à l'autre, qui s'allonge ; les deux noyaux subissent chacun une bipartition qui donne lieu à quatre noyaux qui restent accolés par paires, ressemblant tout à fait aux synkarions décrits par Maire dans les Basidiomycètes ; bientôt après, on voit apparaître, au milieu du filament, une membrane qui délimite deux cellules ayant chacune deux noyaux. La cellule supérieure s'allonge beaucoup, ses deux noyaux se fusionnent en un seul, et elle devient la cellule mère de l'asque (fig. 12). Ce mode de formation des cellules mères qui n'avait pas encore été signalé (1), est très intéressant, car il offre beaucoup d'analogie avec le procédé qui aboutit à la formation des basides dans les Basidiomycètes.

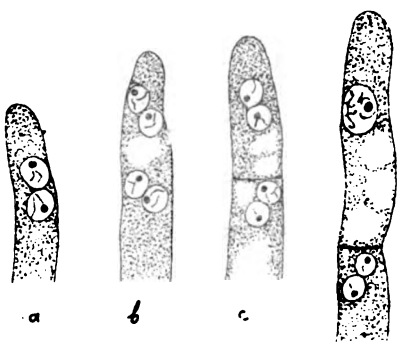


Fig. 12. — Formation des cellules mères des asques de *Peziza* (*species*). (Flemming, hématoxyline ferrique). Gross. 1100.

B. — Développement du noyau. — Les noyaux des cellules mères des asques présentent dans toutes les espèces étudiées une structure analogue à celle de l'*A. cerea* ; ils paraissent très souvent

(1) Maire vient de signaler le même mode de formation des asques dans *Galactinia succosa* (C.-R. Ac. Sc., 9 novembre 1903).

Digitized by Google

en relation avec les corpuscules métachromatiques, mais, de même que dans *l'A. cerea*, aucun fait ne permet de supposer qu'ils aient un véritable rôle dans ces productions. Nous avons pu suivre la karyokinèse dans *Ot. onotica* (Pl. 9, fig. 31 à 38) et *P.* (*species*) (Pl. 8, fig. 43 et 44) ; elle s'effectue exactement comme celle précédemment décrite dans *A. cerea* ; dans la première les chromosomes paraissent voisins de 8, mais, dans la seconde, il ne nous a pas été possible de rechercher le nombre de chromosomes, vu le petit nombre de figures d'anaphase que nous a offert notre échantillon de cette espèce ; par contre, cette dernière avait l'avantage de présenter des asters beaucoup plus faciles à mettre en évidence que dans *l'A. cerea* et de permettre de suivre avec plus de précision le recourbement du kinoplasme délimitant les spores. (Pl. 8, fig. 42 à 47).

C. — Corpuscules métachromatiques. — Nous avons observé des corpuscules métachromatiques dans la plupart des espèces étudiées: *A. olivea*, *A. amplissima*, *A. abietina*, *Ac. vulgaris*, *P. tuberosa*, *Peziza Catinus*, *Peziza venosa*, *Bulgaria inquinans*, *H. elastica*, *H. sulcata*, *H. crispa*, *Ascoph. aurora*. Ils sont très abondants dans toutes ces espèces sauf dans *P. Catinus* qui en renferme très peu ; mais ils sont surtout nombreux dans *P. venosa*, *P.* (*species*), *H. elastica*, *H. crispa* et *H. sulcata*. Dans ces trois dernières, parfois toute la cellule, y compris le noyau, paraît imprégnée d'une substance liquide se colorant de la même façon que les corpuscules et qui semble due, comme nous l'avions déjà signalé dans les levures, à leur dissolution (Pl. 8, fig. 20 et 22). Enfin, ces dernières espèces présentent beaucoup de commodité pour l'étude de l'absorption des corpuscules métachromatiques par les spores (Pl. 8, fig. 19 à 23).

Les corpuscules métachromatiques sont absents dans les espèces suivantes : *Leotia lubrica*, *Hyp. fumicola*, *Geoglossum viride*, *Ciboria echinophila*, *Ot. onotica*.

D. — Glycogène. — Le glycogène existe dans toutes les espèces sauf dans *Peziza Catinus* et *Elaph. granulatus*.

E. — Amyloïdes. — Nous n'avons observé d'amyloïde que dans les Aleuriées et dans *P. venosa*.

F. — Huile. — L'huile se rencontre très fréquemment ; parfois il existe en même temps que les corpuscules métachromatiques, mais ce sont surtout les espèces dépourvues de ces derniers qui en

Digitized by Google

renferment le plus souvent. Nous en avons pourtant observé dans *A. Olivea*, *A. abietina*, *Ac. vulgaris*, *P. Catinus* et *P. venosa*, qui possèdaient également des corpuscules métachromatiques, mais ils sont surtout abondants dans *Leotia lubrica*, *Ciboria equinophyla*, *Ot. onotica*, *Geoglossum viride*, qui ne présentent pas de corpuscules métachromatiques. Dans *H. sulcata*, *H. elastica* et *H. crispa*, on remarque, en même temps que beaucoup de glycogène et de corpuscules métachromatiques, une très grande richesse de globules d'huile. C'est dans ces deux espèces ainsi que dans *Ot. onotica*, que nous avons surtout étudié ces productions.

De même que les corpuscules métachromatiques, les globules d'huile apparaissent, dès le début des cellules mères des asques, dans le cytoplasme alvéolaire des deux pôles et souvent dans le voisinage du noyau qui est comme le centre de cette sécrétion, de même de celle des corpuscules métachromatiques (Pl. 8, fig. 25 à 31). Ces huiles sont absorbées par les spores comme les corpuscules métachromatiques et sont sans aucun doute des produits de réserve ; les spores adultes en renferment une grande quantité.

G. — Spores. — Les spores sont construites sur trois modèles : 1° Les unes sont constituées d'un cytoplasme médian homogène, renfermant un noyau plus ou moins volumineux et du cytoplasme alvéolaire aux deux pôles comme dans l'*Al. cerea*. A ce type se rattachent les spores de *A. olivea*, *A. amplissima*, *A. abietina*, *P. tuberosa*, *P. Catinus*, *Geogloss. viride*, *Leotia lubrica*, *Bulg. inquinans*. Les globules d'huile, quand ils existent, se forment dans le cytoplasme alvéolaire des deux pôles sous forme de petits granules, puis les alvéoles de celui-ci se fusionnent pour constituer bientôt à chacun des pôles une énorme vacuole. Les granules d'huile se fusionnent à leur tour et finissent par former deux gros globules qui envahissent tout entières les deux vacuoles polaires. Les corpuscules métachromatiques sont également localisés dans les vacuoles autour des globules d'huile lorsque ces deux produits coexistent.

2° Les autres sont bâties sur le même plan, mais au lieu d'avoir un seul noyau central, elles en possèdent de deux à quatre petits (*P. venosa*) (Pl. 8, fig. 34).

3° Enfin les dernières sont formées d'une grosse vacuole médiane occupant presque toute la cellule et aux deux pôles d'une calotte cytoplasmique renfermant ordinairement deux petits noyaux.

Digitized by Google

Toute la vacuole est remplie d'un énorme globule d'huile entouré parfois de corpuscules métachromatiques. — (*H. sulcata, H. elastica, Ac. vulgaris*).

IV. — CONCLUSIONS

Il ressort de nos recherches les conclusions suivantes :

1° Les cellules mères des asques naissent, dans toutes les espèces dont nous avons pu suivre le développement complet, suivant le mode décrit par Dangeard dans *P. vesiculosa*, sauf dans *P. species*, où nous avons observé un procédé particulier qui se rapproche beaucoup du mode de formation des basides des Basidiomycètes décrits par Maire.

2° En dehors du glycogène signalé par Errera, l'épiplasme renferme souvent des corpuscules métachromatiques et des globules d'huile. Ces derniers se rencontrent surtout dans les espèces qui sont dépourvues de corpuscules métachromatiques, mais cela n'a rien de constant et ces deux productions peuvent coexister.

3° Les corpuscules métachromatiques apparaissent dès l'origine des cellules mères des asques et leur sécrétion se continue jusqu'au moment de la formation des spores. Contrairement à ce qu'on observe dans *l'Opalina intestinalis* d'après Conte et Vaney, ils naissent toujours aux dépens du cytoplasme sans que le noyau, qui ne subit pendant tout le développement aucune modification de structure, donne d'indication de sa participation dans leur élaboration. Toutefois, ces corpuscules naissent souvent dans le voisinage du noyau, et il ne serait pas impossible que ce dernier joue un rôle indirect dans le chimisme de cette sécrétion, mais rien ne permet de l'affirmer. Les globules d'huile sont sécrétés dans les mêmes conditions que les corpuscules métachromatiques et sont aussi très souvent en relation avec le noyau. On a beaucoup parlé dans ces derniers temps en cytologie animale du rôle du noyau dans les sécrétions ; il est certain qu'il semble exister souvent un rapport entre le noyau et les sécrétions et que le noyau pourrait peut-être avoir un rôle sur ces phénomènes, mais il n'y a jusqu'à présent, malgré tout ce que l'on a pu dire, aucun fait certain qui permette d'affirmer ce rôle et de le préciser.

3° L'étude du développement du noyau, dans les cellules mères

Digitized by Google

des asques, nous a donné l'occasion d'observer la division nucléaire dans trois espèces (*Al. cerea, Ot. onotica* et *P. species*) et nous avons pu vérifier les résultats de Harper relatifs à la karyokinèse et à la formation des spores. Dans *l'Al. cerea* et *Ot. onotica*, nous avons essayé la numération des chromosomes pendant l'anaphase ; dans la première le nombre des chromosomes paraît être de 8 et dans la seconde aussi, mais avec moins de certitude.

4° Il résulte de l'examen du grand nombre d'espèces que nous avons étudiées que les corpuscules métachromatiques se comportent comme des matières de réserve, tout comme le glycogène et les globules d'huile. Il semble qu'on doive écarter l'hypothèse de grains de zymogène ou de granulations élaboratrices, analogues aux leucites. En effet, si l'on admettait l'hypothèse de grains de zymogène, les corpuscules métachromatiques, à moins d'être des éléments producteurs d'oxydases, ne pourraient avoir comme fonction que l'élaboration d'une diastase hydrolisant le glycogène ou transformant l'huile ; or, comme nous l'avons vu, on ne remarque aucune relation entre ces différentes productions : on rencontre des espèces à corpuscules métachromatiques, dépourvues de glycogène (les Schizosaccharomyces que nous avions étudiés antérieurement) et inversement ; de même, on observe des espèces à globules d'huile sans corpuscules métachromatiques et d'autres à corpuscules métachromatiques sans globules d'huile. Ils ne peuvent pas non plus, pour les mêmes raisons, jouer le rôle d'élaïoplastes ou de leucites producteurs de glycogène. Au contraire, leur absorption par les spores et un grand nombre d'autres faits, permettent de les considérer définitivement comme des matières de réserve. C'est d'ailleurs la conclusion à laquelle s'est rattaché tout dernièrement Maire, à propos du *Botryosporium Pulchellum* (1).

(1) Maire : *Remarques cytolog. sur le* Botryosporium Pulchellum (Annales mycologici., vol. I, n° 4, 1903).

10 novembre, 1903.

Digitized by Google

EXPLICATIONS DES PLANCHES (1)

Planche 8

Fig. 1 à 18. — *Aleuria cerea*. 1 à 16, Picroformol, bleu polychrome. Formation des corpuscules métachromatiques dans les cellules mères des asques. — 17. Id. Asque jeune : les spores sont entourées de corpuscules métachromatiques. — 18. Asque mûre ; les corpuscules métachromatiques ont été absorbées par les spores.

Fig. 19 à 32. — *Helvella sulcata*. — 19 à 24. Picroformol, bleu polychrome. Développement des corpuscules métachromatiques dans les cellules mères des asques. — 23. Id. Asque jeune. — 24. Asque mûre. — 25 à 32. Flemming, bleu polychrome. Développement des globules d'huile dans les cellules mères des asques. — 31 et 32. Id. Asques : absorption des globules d'huile par les spores.

Fig. 33. — *Ciboria echinophila* (2). — Picroformol, bleu polychrome. Spore.

Fig. 34. — *Peziza venosa*. — Picroformol, bleu polychrome. Spore.

Fig. 40 à 47. — *Peziza (species)*. 40 et 41, Picroformol, bleu polychrome. Formation des corpuscules métachromatiques dans les cellules mères des asques. — 47. Cellules mères des asques. — 38 et 39. Stades de division nucléaire. — 45 à 47. Délimitation des spores par le kinoplasme.

Planche 9

Fig. 1 à 30. — *Aleuria cerea*. Flemming, hématoxyline ferrique, lichtgrün. — 1 à 8. Noyaux dans les différents stades du développement des cellules mères des asques. — 8. Flemming-bleu polychrome. Id. — 10 à 13. Stades de division karyokinétique : prophase. — 13 et 14. Id. Métaphase. — 15 à 22. Id. Anaphase. — 23. Formation des deux nouveaux noyaux — 24 à 26. Différents stades de division nucléaire; certains noyaux sont coupés transversalement. — 27 à 28. Délimitation des spores par le kinoplasme. — 29. Asque jeune. — 30. Asque adulte.

Fig. 31 à 39. — *Otidea onotica*. Flemming, hématoxyline ferrique, lichtgrün. Différents stades de la division nucléaire. Le noyau est entouré de globules d'huile. — 38. Asque : globules d'huile aux deux pôles de chaque spore.

(1) Les figures ont été dessinées à l'aide de la chambre claire de Zeiss avec l'objectif 1/12 et l'oculaire compensateur 6 de Zeiss.

(2) Sur la légende de la planche 8, au lieu de *Ciboria uliginosa*, lisez *Ciboria echinophila*.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par M. J. LAURENT (*Suite*).

Conclusions. — Quoique les conditions n'aient pas été les mêmes pour toutes les cultures, on peut conclure cependant d'une manière générale que les poids de glucose absorbés par les racines de Maïs augmentent avec la durée de la végétation, avec la vigueur des plantules obtenues et aussi avec la concentration de la liqueur de culture, comme l'indique la comparaison des essais 1 et 2 et celle des essais 8 et 9; ils diminuent par contre à mesure que s'élève le poids des graines ensemencées. Toutes les fois que les cultures ont été prolongées assez longtemps, ils atteignent et peuvent même dépasser très sensiblement le poids sec de la plantule.

C'est une preuve certaine que le glucose absorbé est utilisé par la plante au même titre que les hydrates de carbone dont la fonction chlorophyllienne provoque la synthèse, et l'on doit retrouver dans le gaz carbonique rejeté par le végétal une partie du carbone puisé par les racines dans le milieu de culture.

J'ai d'ailleurs réalisé quelques cultures en milieux sucrés comparativement avec des cultures dans la liqueur Detmer seule, et dans tous les cas le glucose a provoqué une végétation plus vigoureuse.

Ainsi le 24 mai 1900, j'ai mis en germination deux lots de graines de Maïs cinquantini aussi identiques que possible, pesant chacun 4 gr. 34 pour 40 graines. L'un a été ensemencé dans la liqueur Detmer seule, et le second dans cette même liqueur additionnée de 3 pour cent de glucose. Le 15 juin, c'est-à-dire après 22 jours de végétation, il s'est développé dans la solution minérale

Digitized by Google

14 plantules dont le poids sec atteint 1 gr. 16 tandis que la liqueur sucrée a fourni 19 plantules pesant ensemble après dessiccation 1 gr. 975. Le poids sec moyen de chaque pied de Maïs est ainsi de 0 gr. 083 dans le premier cas et 0 gr. 104 dans le second. L'addition de matières sucrées, même dans le cas où la plante exposée à la lumière peut assimiler le gaz carbonique de l'atmosphère, augmente ainsi le poids sec d'un quart de sa valeur, et si l'on veut rechercher l'aliment type qui donne le maximum de rendement, il faudra, tout au moins dans le cas du Maïs, ne pas négliger le glucose à titre d'aliment carboné. Je montrerai plus loin que ce résultat peut être étendu à d'autres plantes et à d'autres substances organiques.

On peut remarquer cependant combien sont élevés les poids de glucose absorbé vis-à-vis du poids sec des plantules obtenues. Ainsi dans l'expérience 1 la plante a consommé 0 gr. 656 de glucose et environ 0 gr. 150 d'albumen pour édifier à la lumière 0 gr. 632 de matière sèche en 31 jours de végétation et l'on peut se demander si avec les matières sucrées en excès, la fonction chlorophyllienne conserve la même activité qu'en présence des solutions exclusivement minérales.

On s'accorde généralement pour assimiler cette fonction à une action diastasique ; si la comparaison est exacte, et Friedel (1) et Macchiati (2) en ont donné récemment la preuve expérimentale, l'arrivée par les racines de matières sucrées qui entrent en combinaison avec les aliments minéraux de la plante empêche ces derniers de s'élever jusque dans les feuilles ; ces organes se trouvent rapidement encombrés des produits de l'action chlorophyllienne qui doit être bientôt suspendue comme sont ralenties toutes les actions diastasiques par les substances mêmes qu'elles engendrent. Il serait donc intéressant d'étudier les échanges gazeux chez les plantes cultivées dans les solutions organiques comparativement avec des pieds identiques développés dans les solutions minérales et les expériences d'Ewart (3) dans lesquelles l'accumulation des hydrates

(1) Jean Friedel : *L'assimilation chlorophyllienne réalisée en dehors de l'organisme vivant.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sc. 6 mai 1901, p. 1138.

(2) Luigi Macchiati : *Sur la photosynthèse en dehors de l'organisme.* Comptes-rendus de l'Acad. des Sciences, 15 décembre 1902, p. 1128.

(3) A.-J. Ewart : Journal Linnean Society Botany, t. XXXI, p. 364, 1896.

Digitized by Google

de carbone produits par l'assimilation suspend la fonction chlorophyllienne justifient entièrement la remarque précédente.

Par des expériences très simples et très ingénieuses, Palladine (1) a déjà montré que les matières sucrées interviennent dans la synthèse des albuminoïdes et le fait a été confirmé par les recherches de Mazé (2); je puis ajouter qu'elles favorisent en outre la formation de la chlorophylle, et les plantes développées sur les solutions sucrées sont toujours d'un vert intense alors que les cultures dans la liqueur de Detmer donnent fréquemment des pieds chlorotiques d'autant plus jaunes que les réserves de la graine sont moins abondantes.

Il semble ainsi que la première apparition des chloroleucites soit sous la dépendance directe de l'apport des substances sucrées qui proviennent de la digestion des réserves de la graine; puis la chlorophylle une fois formée interviendrait directement, grâce aux radiations lumineuses, pour constituer de nouveaux hydrates de carbone qui provoqueraient à leur tour la formation d'une nouvelle quantité de chlorophylle; et à chaque instant du développement de la plante, le poids de chlorophylle et par suite la vigueur de végétation seraient fonction du poids initial de matières sucrées mises à la disposition de ses organes aériens. Les graines les plus lourdes donneraient ainsi les pieds les plus vigoureux, comme on a pu le vérifier maintes fois dans la pratique agricole.

3° *Cultures à l'obscurité*

S'il est bien vrai que le glucose absorbé par les racines peut suppléer en partie à l'assimilation chlorophyllienne, il doit être possible d'obtenir une augmentation de poids sec en cultivant des plantes à l'obscurité.

La méthode consiste à ensemencer des graines de Maïs préalablement stérilisées dans la liqueur de Detmer additionnée de glucose et stérilisée. Les flacons de culture sont recouverts d'une cloche

(1) W. Palladine : *Influence de la lumière sur la formation des substances azotées vivantes dans les tissus des végétaux.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, t. 128, p. 377, 1899.

(2) Mazé : *L'assimilation des hydrates de carbone et l'élaboration de l'azote organique dans les végétaux supérieurs.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, 1899.

Digitized by Google

lavée au sublimé et coiffée d'un capuchon en papier noir. Le tout est placé sous une table dans la partie la plus obscure du laboratoire; les diverses cloches sont entourées en outre d'une seconde feuille de papier noir. Des cultures témoins sans glucose sont placées dans des conditions identiques. On a déterminé à l'avance le poids des graines ensemencées; des graines de même forme et de même poids sont triturées puis desséchées à l'étuve à la température de 110°; on obtient ainsi le poids sec des graines; on détermine de même le poids sec des plantes obtenues.

1° *Du 2 août 1898.* Deux graines de Maïs sont ensemencées le 25 mai dans la liqueur Detmer additionnée de 2 pour cent de glucose puis placées à l'obscurité. Le 2 août quelques taches de *Penicillium* commencent à se développer; néanmoins l'un des pieds de Maïs est vigoureux et sa tige entièrement étiolée dépasse 30 centimètres de hauteur. Le poids sec des deux plantes atteint 0 gr. 518; celui de deux graines identiques à celles qui ont été ensemencées ne dépasse pas 0 gr. 379. L'augmentation de poids sec à l'obscurité a été de 0 gr. 518 — 0 gr. 379 = 0 gr. 139

Des graines semblables calcinées ont donné un résidu de 0 gr. 008 de cendres; le poids des cendres pour les plantes développées a été de 32 milligrammes. L'augmentation de poids sec atteint donc pour la matière organique seule 115 milligrammes après 69 jours de végétation.

2° *Du 1er octobre 1898.* Le 27 août, deux graines identiques de Maïs cinquantini pesant ensemble 0 gr. 300, ce qui correspond à 0 gr. 258 de poids sec, sont ensemencées après stérilisation dans 250 cmc. de liqueur Detmer additionnés de 2 gr. de glucose.

Le 1er octobre l'une des graines seulement s'est développée et sa tige atteint 12 centimètres de longueur. Le poids sec de la plante est de 0 gr. 140; la graine pesant $\frac{0,258}{2}$ = 0 gr. 129, l'augmentation de poids sec est de 11 mmgr.

Les cultures témoins faites dans la liqueur Detmer sans glucose et à l'obscurité ont donné les résultats suivants :

Poids sec des graines	Poids sec de la plante	Perte de poids
0 gr. 448	0 gr. 375	0 gr. 073
0 gr. 384	0 gr. 345	0 gr. 039
0 gr. 384	0 gr. 370	0 gr. 014

Digitized by Google

Conclusion.— On voit que dans toutes les expériences témoins il y a eu diminution sensible du poids sec tandis que les cultures avec glucose ont mis en évidence l'assimilation du carbone à l obscurité.

Ces résultats annoncés dans ma note (1) « *Sur l'absorption des hydrates de carbone* » ont été confirmés ultérieurement par Mazé (2) pour la Vesce.

4° Cultures à la lumière et en l'absence de gaz carbonique.

Les graines de Maïs stérilisées sont ensemencées dans la liqueur Detmer avec ou sans glucose. Les flacons sont placés sur un plateau de verre rodé et recouvert d'une cloche à deux tubulures latérales, lutée à la paraffine sur le plateau. Des fragments de potasse caustique sont placés sous la cloche et les deux tubulures portent des tubes en U également garnis de potasse. A défaut d'aspirateur on renouvelle l'air sous la cloche à l'aide d'une poire de caoutchouc en relation avec une série de tubes à potasse précédés d'un tube de Liebig renfermant une solution de bichlorure de mercure pour arrêter les germes d'organismes inférieurs ; d'ailleurs les tubes de verre qui pénètrent dans les tubulures de la cloche sont garnis de bourres de coton qui les retiennent au passage.

Les plantes se développant à la lumière, le gaz carbonique qu'elles dégagent pendant la nuit est en grande partie absorbé par la potasse, mais pendant le jour elles peuvent assimiler par la fonction chlorophyllienne la plus grande partie du carbone rejeté par la respiration et dans les cultures sans glucose nous devrons trouver une diminution de poids sec sensiblement plus faible que dans les expériences faites à l'obscurité.

1° *Du 15 juillet 1898.* — Deux graines de Maïs cinquantini pesant ensemble 0 gr. 345, soit 0 gr. 294 de poids sec sont ensemencées le 9 mai dans 200^{cmc} d'une solution Detmer avec 2 pour cent de glucose. Le 15 juillet, après 67 jours de végétation, il reste 2 gr. 166 de glucose : l'absorption a été de 1 gr. 834 et le poids sec de la plante atteint 0 gr. 860 soit une augmentation de

$$0.860 - 0.294 = 0 \text{ gr. } 566$$

(1) J. Laurent : *Absorption des hydrates de carbone par les racines.* CR. Acad. des Sc. séance du 14 novembre 1898.

(2) Mazé : *loc. cit.*

Digitized by Google

2° Dans les mêmes conditions, deux graines pesant ensemble 0 gr. 425, soit 0 gr. 362 de poids sec ont absorbé 1 gr. 383 de glucose et donné des plantes dont le poids sec atteint 0 gr. 780 surpassant de 0 gr. 780 — 0 gr. 362 = 0 gr. 418 le poids sec des graines.

3° Un flacon témoin rempli de liqueur Detmer sans glucose et placé sous la même cloche que les précédents a reçu deux graines de Maïs cinquantini pesant ensemble 0 gr. 382 ; après 67 jours de culture le poids frais des deux plantes est de 4 gr. 260 correspondant à 0 gr. 372 de poids sec; c'est dire que le poids sec n'a pas sensiblement varié.

Conclusion. — Quoique peu nombreuses, ces expériences suffisent à montrer que dans les cultures à la lumière et en l'absence de gaz carbonique, la nutrition carbonée de la plante peut être assurée à l'aide d'une solution de glucose qui supplée ainsi à l'insuffisance de la fonction chlorophyllienne.

5° *Formation d'amidon aux dépens du glucose absorbé par les racines*

L'utilisation directe du glucose absorbé par les racines a été mise en évidence par une nouvelle méthode consistant à provoquer sa transformation en amidon, qui sera mis en réserve par les feuilles et repris ensuite par la plante.

Les végétaux, cultivés en milieux liquides, sont désamidonnés en les maintenant à l'obscurité pendant une période de 24 à 48 heures selon les espèces. On s'assure de la disparition d'amidon par le procédé de Sachs ; un fragment de feuille est traité par l'alcool à l'ébullition jusqu'à décoloration complète ; il est alors plongé dans l'eau iodée pendant une demi-heure environ, puis lavé à l'eau ordinaire ; si le parenchyme renferme des grains d'amidon, la feuille prend une teinte bleu noirâtre caractéristique, sinon elle se colore simplement en jaune cuir. D'ailleurs il suffit d'examiner au microscope la feuille devenue suffisamment transparente pour s'assurer de la présence ou de l'absence d'amidon dans les cellules du parenchyme. Cet examen a été fait dans toutes les expériences ; il est nécessaire pour retrouver des traces d'amidon et il m'a permis de constater que ce corps disparaît facilement à l'obscurité sauf à l'intérieur des cellules stomatiques qui se comportent à ce point de vue autrement que les cellules de parenchyme. Chez certaines

Digitized by Google

espèces il est même à peu près impossible de provoquer la consommation de l'amidon localisé dans les cellules stomatiques.

Lorsqu'on s'est assuré de la disparition de l'amidon du tissu parenchymateux, on place les racines dans une solution de 1 à 5 pour cent de glucose dans l'eau distillée, et on expose la plante *au soleil* pendant quelques heures sous une cloche reposant sur une solution de potasse. Des pieds témoins plongés dans l'eau distillée et également privés d'amidon accompagnent les plantes mises en expérience. On prélève de nouveau quelques fragments des mêmes feuilles et on recherche l'amidon par la méthode indiquée.

J'ai pu constater ainsi la formation d'amidon chez la Mercuriale annuelle, le Séneçon vulgaire, la Capucine, le Haricot, le Lierre terrestre, le Souci des Champs ; mais la méthode n'est pas applicable aux Graminées chez lesquelles les réserves se présentent habituellement à l'état de saccharose.

Il n'est pas nécessaire d'utiliser les cultures en milieux liquides pour arriver aux résultats précédents, et les mêmes plantes en terre, arrosées d'une solution de glucose amènent aux mêmes conclusions.

J'ai répété ces expériences à l'obscurité, et dans aucun cas, même en élevant la température, il ne m'a été possible de mettre en évidence la formation d'amidon dans les feuilles. Il suffit de se reporter aux résultats obtenus plus haut pour s'en rendre compte : les circonstances qui activent l'absorption de l'eau favorisent également celle du glucose ; avec un pied de Mercuriale ou de Séneçon exposé à la lumière en l'absence de gaz carbonique nous supprimons en grande partie la fonction chlorophyllienne ; mais nous activons d'autant la chlorovaporisation et par suite l'absorption, et cette pénétration considérable d'eau dans le corps de la plante est accompagnée d'une absorption plus forte de glucose dont une partie seulement est consommée tandis que l'excédent se trouve mis en réserve sous forme d'amidon.

En l'absence de lumière, au contraire, on voit diminuer considérablement les poids d'eau et de glucose absorbés et il est possible que ce dernier s'abaisse dans des limites telles que la plante puisse seulement suffire aux consommations exigées par la continuité des phénomènes respiratoires et par la croissance qui est, comme on sait, plus rapide à l'obscurité.

Digitized by Google

L'exactitude de cette interprétation se trouve confirmée par les expériences bien connues de Böhm, A. Meyer et E. Laurent, dans lesquelles on provoque la formation d'amidon même à l'obscurité en immergeant des feuilles dans une solution de glucose. On établit ainsi que les matières sucrées empruntées au milieu extérieur peuvent servir directement à la nutrition de la plante.

Les feuilles ne sont pas les seuls organes de la plante dans lesquels s'accumulent des réserves d'amidon ; alors que chez la plupart des végétaux le corps de la racine en est généralement dépourvu, j'en ai rencontré d'une manière constante dans toutes les plantes que j'ai observées à l'intérieur des cellules jeunes de l'extrémité de la racine. Toutes les cellules non différenciées appartenant au méristème des racines *en voie de croissance* et celles-là seulement en sont remplies, qu'elles soient destinées à faire partie de la coiffe, de l'écorce ou du cylindre central ; mais l'amidon fait défaut dans celles qui présentent le moindre indice de différenciation ; le parenchyme cortical est la région de la racine où il s'élève le plus haut.

Dans la plupart des cas les grains d'amidon, très petits, sont disposés d'une façon très régulière autour du noyau qu'ils enveloppent d'une couche sphérique. L'observation peut se faire sur des coupes longitudinales de l'extrémité de la racine, mais il est plus simple d'écraser celle-ci entre lame et lamelle et de traiter directement par l'eau iodée.

Les réserves ainsi formées proviennent du transport vers l'extrémité de la racine des hydrates de carbone empruntés aux autres régions de la plante : à la graine pour les plantules en germination et aux feuilles pour les plantes entièrement développées, car on provoque la digestion de l'amidon en quelques jours : 1° en coupant la racine de la plantule ; 2° en maintenant la plante adulte deux à trois jours à l'obscurité.

Ainsi privées d'amidon, les racines forment de nouvelles réserves lorsqu'on les immerge pendant quelques heures à une température de 20 à 25° dans une solution de glucose à 5 pour cent.

Conclusion. — Le glucose absorbé par les racines peut être mis en réserve sous forme d'amidon soit dans les feuilles, soit dans les cellules du méristème terminal de la racine.

Digitized by Google

Ces résultats étaient obtenus quand j'ai eu connaissance des expériences d'Acton (1) entreprises exactement dans les mêmes conditions; ils les confirment en ce qui concerne le glucose.

6° *Essais de culture en pleine terre*

Les diverses méthodes par lesquelles j'ai cherché à étudier le rôle du glucose dans la nutrition des plantes vertes exigent pour la plupart des milieux de culture entièrement privés d'organismes inférieurs, et les conditions de mes expériences ont été ainsi très différentes de celles qui sont réalisées dans la nature. Il était donc intéressant de rechercher ce qu'il advient dans les cultures en pleine terre lorsque les racines des végétaux supérieurs se trouvent, avec les bactéries du sol, en présence d'une solution de glucose.

J'ai déjà montré que dans ce cas une partie du glucose peut être absorbée par les racines et servir à la synthèse de l'amidon dans les feuilles. Une expérience réalisée sur la betterave m'a paru très-instructive à cet égard.

Deux parcelles contiguës aussi identiques que possible et ayant chacune une surface de 8 mètres carrés ont été ensemencées en betteraves appartenant à la variété Globe à petites feuilles. Le 14 septembre 1900 l'aspect de la végétation étant le même dans les deux parcelles, toutes les plantes ont été fortement effeuillées de manière à laisser sur chaque betterave une rosette de 4 à 5 feuilles au plus; j'espérais ainsi diminuer l'importance de la fonction chlorophyllienne dans l'accroissement de la plante. A partir de cette époque des arrosages ont été pratiqués régulièrement deux fois par semaine avec 12 litres d'eau ordinaire pour la première parcelle et 12 litres d'une solution de glucose à 1 pour cent pour la seconde. L'absence de pluies pendant la seconde quinzaine de septembre est venue faciliter les expériences. Dès les premiers jours d'octobre, j'ai fait pratiquer des arrosages tous les deux jours; mais les betteraves qui recevaient la solution de glucose ont commencé à jaunir; des traces de moisissures apparaissaient çà et là à la surface du sol et les résultats me paraissaient fortement compromis quand la pluie du 10 octobre (il est tombé 12 mm. d'eau) est venue débarrasser le sol de l'excédent de glucose.

(1) *Loc. cit.*

Digitized by Google

A partir de ce moment j'ai cessé les arrosages et l'arrachage a eu lieu le 18 octobre. J'ai obtenu ainsi :

1° *Parcelle sans glucose.*

44 kgr. de racines correspondant à 5 k 500 de poids sec.

2° *Parcelle avec glucose.*

40 kgr. de racines correspondant à 5 k 819 de poids sec.

J'ai répété cette expérience exactement dans les mêmes conditions en septembre 1901 ; mais les pluies abondantes de l'automne sont venues modifier les résultats et la parcelle avec glucose m'a donné un poids sec de racines sensiblement plus faible que la parcelle témoin : 4 k 992 contre 5 k 854. Néanmoins une partie du glucose employé en arrosage a pénétré dans les racines et on peut le retrouver à l'analyse. Les 4 k 992 de matière sèche renferment en effet 114 gr. de sucres réducteurs pour 2533 gr. de saccharose alors que dans la parcelle témoin j'ai obtenu seulement 97 gr. de sucres réducteurs pour 3141 gr. de sucre de canne.

Il n'est pas nécessaire de poursuivre les expériences pendant plusieurs semaines pour constater l'absorption du glucose et quelques heures après un arrosage avec la solution sucrée, on peut le retrouver dans le corps de la racine en plus forte proportion que dans les pieds témoins.

Ainsi à partir du 8 octobre 1901, 7 pieds de betteraves à sucre, variété Klein Vanzleben sont arrosés chaque jour avec 6 litres d'une solution de glucose à 5 pour cent. Le 12 octobre, après 5 arrosages consécutifs, les racines sont arrachées et on prélève un échantillon sur chacune d'elles de manière à obtenir 320 grammes de pulpe ; l'analyse de l'extrait aqueux y indique 0 gr. 808 de sucres réducteurs tandis que 320 gr. récoltés sur 6 pieds témoins aussi identiques que possible n'en contiennent que 0 gr. 538.

On pourrait objecter à ce résultat que la solution de glucose à 5 %, a pu déterminer une plasmolyse partielle et accroître ainsi la concentration du suc cellulaire ; mais l'expérience ayant été faite dans une période de beau temps, les pieds témoins se trouvaient eux-mêmes dans le sol en présence d'un liquide à pouvoir osmotique relativement élevé, et les différences considérables dans les

Digitized by Google

chiffres trouvés à l'analyse ne peuvent être attribuées à cette cause. J'ajouterai que l'échantillon de 320 gr. renfermait dans les deux cas des poids très voisins de sucre de canne : 26 gr. 5 pour les betteraves arrosées contre 25 gr. 4 pour les autres alors que l'augmentation du poids de sucres réducteurs provoquée par la solution sucrée atteint environ 50 pour cent.

Conclusion.— Malgré l'insuccès de l'expérience de 1901, il est donc certain que les racines sont capables d'absorber une petite partie du glucose répandu sur le sol ; mais dans les essais de ce genre les résultats seront toujours douteux parce que les microorganismes du sol trouvent des conditions de développement si favorables qu'ils ne tardent pas à envahir les racines et à vivre en parasites à leurs dépens.

II. Recherches sur l'amidon.

1° *Cultures en milieux stérilisés.*

La même méthode générale de culture en milieux liquides stérilisés a été appliquée dans les recherches relatives à l'utilisation de l'amidon. Celui-ci a été préalablement transformé en empois dans la liqueur Detmer, puis l'empois a été stérilisé à l'autoclave dans les conditions habituelles, c'est-à-dire que la température a été maintenue entre 115 et 120° pendant 20 minutes. Les graines sont suspendues à la surface du liquide à l'aide d'un filet de soie quand on opère avec des liqueurs étendues ; mais si l'empois est suffisamment solide on peut les déposer simplement à sa surface. Lorsque les plantes ont acquis un développement suffisant, on recherche les sucres réducteurs dans le milieu de culture, puis on hydrate l'amidon par une ébullition prolongée en présence d'acide chlorhydrique étendu et on dose de nouveau par la liqueur de Fehling. En comparant les résultats obtenus à ceux d'expériences témoins, on peut obtenir le poids d'amidon utilisé par la plante.

Deux séries d'expériences ont été réalisées avec le Maïs : la première du 15 juin au 31 juillet 1898 et la seconde du 8 août au 6 septembre. Les résultats se trouvent consignés dans le tableau ci-contre.

Digitized by Google

D autres cultures ont été réalisées avec des graines de Pois et de Maïs ensemencées sur un empois plus concentré ; les graines stérilisées ont été déposées à la surface dans des flacons à large

Désignation des cultures et observations	Poids d'amidon employé	Volume initial de la liqueur	Poids de sucres réducteurs formés	Poids des sucres réducteurs après hydratation de l'amidon	Absorption évaluée en glucose
1re Série					
1. Deux graines ensemencées pesant ensemble 0 gr. 400 ; un seul pied développé ; les racines sont noueuses, irrégulières à l'extrémité. . .	0 gr. 432	250 cmc.	»	traces	0 gr. 33
2. Deux graines pesant ensemble 0 gr. 380; deux pieds developpés; racines fortement renflées dans la partie immergée	0 — 432	250 —	0 gr. 06	0 gr. 100	0 — 226
3. Témoin	0 — 432	250 —	»	0 — 336	»
2e Série					
1. Deux graines ensemencées ; un seul pied développé ; la plantule desséchée pèse 0 gr. 190.	2 gr.	250 —	traces	1 — 479	0 — 077
2. Deux graines ensemencées ; deux pieds développés et conservés pour l'étude anatomique	2 —	250 —	0 gr. 079	1 — 302	0 — 254
3. Deux graines ensemencées ; une seule a germé ; la plantule sèche pèse 0 gr. 190 .	2 —	250 —	traces	1 — 395	0 — 161
4. Deux graines ensemencées ; poids sec des deux plantules 0 gr. 215	2 -	450 —	0 gr. 105	1 — 022	0 — 534
5. Témoin	2 —	250 —	»	1 — 556	»

ouverture fermés par un tampon de coton ; 10 à 12 graines ont été ensemencées dans chaque flacon et après un mois de végétation une petite partie de l'empois a été liquéfiée, donnant des poids de sucres réducteurs compris entre 0 gr. 05 et 0 gr. 250.

Ainsi dans la plupart de mes cultures sur empois, de petites quantités de sucres réducteurs provenant de l'hydratation de l'amidon sont apparues dès les premières phases de la germination

Digitized by Google

et toujours, même lorsque l'analyse ne permettait de déceler que des traces de matières sucrées, l'absorption des aliments carbonés a été appréciable ; elle a dû porter bien certainement sur l'amidon solubilisé par le passage à l'autoclave à la température de 120° ; car elle est d'autant plus sensible que l'amidon a été délayé dans une plus grande quantité d'eau.

2° *Origine des diastases rejetées par les plantules*

La présence de sucres réducteurs et cette digestion partielle de l'amidon supposent l'intervention de diastases dont il importe de préciser l'origine ; deux hypothèses peuvent être faites à ce sujet : 1° la sécrétion se fait par quelque région de la surface des racines ; 2° les diastases proviennent de la graine elle-même et sont directement exosmosées dans le milieu extérieur. Examinons successivement ces deux hypothèses.

1° Y a-t-il sécrétion de diastases par les racines ? Depuis longtemps déjà des recherches nombreuses ont été entreprises sur la question des excrétions par les racines et sur la nature des produits rejetés. Sans rappeler tous les mémoires anciens d'Unger, de Braconnot, de Boussingault qui semblaient la résoudre dans le sens de la négative, je signalerai simplement les travaux récents se rapportant plus spécialement à la sortie des diastases.

Prunet (1) a montré que les racines de Chiendent traversant accidentellement des tubercules de Pomme de terre, ont digéré devant elles l'amidon d'abord, puis la paroi des cellules.

Coupin (2) remarquant la faible résistance de la radicule du Haricot et la résistance plus considérable du tégument de la graine suppose l'intervention d'une diastase qui dissocierait les cellules du tégument ; il trouve bien en effet une diastase sur la face interne du tégument des graines germées mais il n'arrive à en établir ni l'origine ni les propriétés ; proviendrait-elle de la radicule ?

Par contre Czapek (3) étudiant les produits d'exosmose des

(1) A. Prunet : *Sur la perforation des tubercules de Pomme de terre par les rhizomes du Chiendent.* Rev. gén. de Botanique, t. III, p. 167, 1891.

(2) H. Coupin : *Recherches sur l'absorption et le rejet de l'eau par les graines.* Ann. des sc. Bot., 8e série, t. II, p 129, 1896.

(3) Czapek : *Ueber die sauren Eigenschaften der Wurzelauscheidungen* (Ber. deutsch. bot. Ges. XIV, p. 29).

Digitized by Google

racines y rencontre bien des sels de potassium, de magnésium et de calcium, mais il n'y aurait d'après lui aucune diastase.

On peut simplement remarquer que l'étude des racines cultivées dans l'eau distillée ne permet pas de résoudre la question de sécrétion des diastases. Les recherches de Duclaux (1) sur *Aspergillus glaucus* et *Penicillium glaucum* ont montré que si la nature de la cellule vivante intervient bien dans la sécrétion, celle-ci est généralement adaptée à l'aliment, et l'absence de diastases pourrait être attribuée à l'absence d'aliment à digérer.

Aussi ne faut-il pas s'étonner des résultats obtenus par Van Tieghem et Douliot (2) dans leurs recherches sur la sortie des radicelles. Ils ont montré en effet que l'épiderme de la racine dans certains cas, la poche digestive dans les autres, sécrète les diastases nécessaires à la digestion du contenu et des parois des cellules de l'écorce, respectant le méristème de la jeune racine et exerçant ainsi une action comparable dans ses effets à la phagocytose élective qui s'accomplit chez beaucoup d'insectes pendant la période de nymphose. La poche digestive tombe il est vrai avec la première assise de la coiffe, mais il serait assez naturel de voir l'épiderme conserver après la sortie des radicelles les fonctions qu'il remplissait jusqu'alors.

Enfin les diastases sécrétées par la poche digestive et capables de s'épancher dans l'écorce ne peuvent-elles pas aussi se répandre dans le milieu extérieur, surtout dans les cultures en milieux liquides où la subérification de l'écorce est tardive et toujours peu avancée ?

Quelles que soient d'ailleurs les expériences entreprises pour résoudre ces diverses questions, on peut prévoir facilement que la solution obtenue ne pourra pas être générale, car s'il existe bien des diastases dans les racines, leur dialyse dépend non seulement des propriétés des membranes cellulaires mais encore des propriétés du milieu extérieur ; les résultats obtenus ne s'appliqueront donc qu'à tel ou tel cas particulier sans qu'il soit possible de discerner ce qu'il adviendrait dans d'autres conditions.

(1) Duclaux : *Traité de microbiologie.*

(2) Van Tieghem et Douliot : *Recherches comparatives sur l'origine des membres endogènes.* Ann. Sc. nat., 7e série, t. VIII, 1888.

Digitized by Google

Ces réserves faites au sujet de généralisations trop hâtives, j'ai recherché tout d'abord s'il existe des diastases dans les racines en m'attachant principalement à y déceler la présence de l'amylase.

Le 22 mai 1900 j'ai mis en germination environ un demi-litre de graines de Maïs stérilisées ; les unes ont été exposées à la lumière ; d'autres maintenues à l'obscurité. Le 4 juin les plantules sont bien développées atteignant pour le second lot 15 à 20 centimètres de longueur totale dont 6 à 10 centimètres pour la racine principale. Les racines coupées pèsent 71 grammes ; elles sont triturées dans un mortier avec du sable préalablement lavé à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau distillée et on fait macérer le produit pendant 3 heures environ dans l'eau chloroformée. Le liquide est exprimé puis filtré et j'obtiens ainsi 84 centimètres d'extrait qui serviront pour la recherche des diastases.

Je prépare un empois avec 5 grammes d'amidon pour 100 cmc. d'eau distillée ; j'y ajoute 25 cmc. d'extrait et quelques gouttes de chloroforme, puis la liqueur est portée à l'étuve pendant 12 heures à une température comprise entre 40 et 50°. La liquéfaction de l'empois est très avancée et l'analyse indique la formation de 1 gr. 634 de sucres réducteurs.

D'autre part 25 cmc. d'extrait sont portés à l'ébullition pour détruire les diastases, puis après refroidissement ils sont saturés de chloroforme et maintenus également pendant 12 heures à l'étuve entre 40 et 50° ; un dosage par la liqueur de Fehling indique 0 gr. 300 de sucres réducteurs évalués en glucose.

L'intervention des diastases contenues dans 25 cmc. d'extrait a donc déterminé la saccharification d'une partie notable de l'amidon et la formation de

$$1{,}634 - 0{,}300 = 1 \text{ gr. } 334 \text{ de sucres réducteurs.}$$

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

OBSERVATIONS
SUR LA STRUCTURE DES GLANDES PÉTIOLAIRES
D'*HEVEA BRASILIENSIS*

par MM. Aug. DAGUILLON et H. COUPIN

On sait que les *Hevea* possèdent des feuilles alternes, longuement pétiolées, composées de trois grandes folioles disposées suivant le mode palmé. Chez diverses espèces de ce genre on observe, à l'extrémité distale du pétiole, sur sa face supérieure, tout près de la naissance des trois folioles, de petites glandes rentrant dans cette catégorie générale que les auteurs désignent du nom de *nectaires extrafloraux*.

L'observation de ces petits organes n'a pas échappé aux botanistes descripteurs, et ils ont noté leur distribution pour la faire entrer dans la diagnose des espèces. Par contre, il ne semble pas que les anatomistes qui ont étudié, à diverses reprises, les nectaires extrafloraux de diverses Euphorbiacées aient eu l'occasion de s'occuper de ceux des *Hevea*. G. Bonnier (1) a décrit ceux du genre *Ricinus*; à cette description Morini (2) a ajouté celle des nectaires de *Crozophora tinctoria* et d'*Homalanthus populifolia*; P. Groom (3) a étudié ceux des *Aleurites*; Frömbling (4) ceux des *Croton* et *Micrandra* Bth; Poulsen (5) ceux d'*Excœcaria biglandulosa*; nulle part nous n'avons trouvé d'indications sur la structure de ceux des *Hevea*.

(1) G. Bonnier : *Les Nectaires, étude critique, anatomique et physiologique*, Paris, 1879.

(2) F. Morini : *Contributo all' Anatomia ed alla Fisiologia dei Nettarii estranuziali* (Memorie della R. Accademia delle Scienze dell' Istituto di Bologna, série IV, tome VII, 1886).

(3) Annals of Botany, vol. VIII, 1894.

(4) Frömbling : *Anat. syst. Untersuchungen von Blatt. u. Axe d. Crotoneen und Euphyllantheen* (Diss. München, 1896).

(5) V. A. Poulsen : *Nogle extraflorale Nektarier, studier fra Java* (Videnskabelige Meddelelser fra der Naturhistoriske Forening i Kjøbenhavn, 1897).

Digitized by Google

M. Costantin, professeur de Culture au Muséum d'Histoire naturelle, ayant bien voulu mettre à notre disposition des échantillons frais d'*Hevea brasiliensis*, nous avons pu étudier sur ces matériaux, soit directement, soit après fixation dans le liquide de Flemming, l'organisation des nectaires extrafloraux de cette espèce. Bien que cette organisation offre des ressemblances avec celle qui a été relevée dans des organes de même nature chez divers autres genres d'Euphorbiacées par les auteurs dont les noms sont cités plus haut, elle se signale cependant par quelques caractères qu'il nous a paru intéressant de faire connaître : tel est l'objet de cette petite note.

Chez l'espèce qui nous occupe (*Hevea brasiliensis*), la face supérieure du pétiole frais offre, entre les bases des trois folioles, un espace lisse et légèrement bombé, occupé par un nombre variable de glandes : parfois on en observe une paire (et elles sont alors disposées symétriquement, à droite et à gauche) ; souvent il y en a trois, une glande impaire se présentant à la suite des deux précédentes ; quelquefois on en compte quatre, formant deux paires, ou même cinq. Chaque glande est ordinairement plus ou moins saillante au-dessus de la surface lisse du pétiole : elle forme comme une petite verrue dont le sommet est occupé par une fossette plus ou moins exactement circulaire, que circonscrit une sorte de bourrelet : appelons-le *bourrelet périglandulaire*. Il peut arriver, d'ailleurs, que deux glandes voisines se confondent en une seule : alors les deux fossettes s'unissent de manière à constituer une dépression de forme allongée, limitée par un bourrelet commun, de contour irrégulier.

Une coupe transversale faite dans la glande et passant par le centre de la fossette montre qu'au niveau de cette dépression l'épiderme est assez profondément modifié.

L'épiderme normal du pétiole est formé, dans cette région, de cellules à membrane fortement cutinisée vers l'extérieur ; elles renferment en abondance une substance offrant les réactions caractéristiques des tannoïdes (coloration rouge brun avec le bichromate de potassium, jaune paille avec l'acéto-tungstate de sodium). Ces caractères se retrouvent dans l'épiderme qui tapisse le bourrelet périglandulaire.

Le long de la ligne circulaire qui limite la fossette, on voit brus-

Digitized by Google

quement changer les caractères des cellules épidermiques. Elles deviennent sensiblement plus étroites, mais en même temps beaucoup plus hautes : dans un échantillon, les cellules épidermiques normales avaient environ 20 μ de hauteur sur 12 à 13 μ de largeur, tandis que celles de la fossette mesuraient de 60 à 70 μ de hauteur sur 6 à 7 μ de largeur. Fortement serrées les unes contre les autres, elles prennent un peu l'aspect d'une assise en palissade, dont la limite interne atteint un niveau notablement plus profond que celle de l'épiderme normal qui l'avoisine. Il peut y avoir, tout au moins par places, dédoublement de l'épiderme ainsi modifié en deux assises superposées. Le protoplasme des cellules est abondant

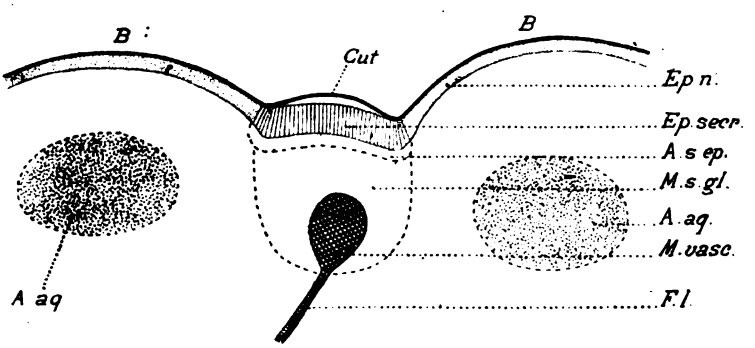


Fig. 13. — Coupe transversale schématique d'une glandule pétiolaire d'*Hevea brasiliensis*. — *B*, bourrelet périglandulaire ; *Cut*, cuticule ; *Ep. n.*, épiderme normal ; *Ep. secr.*, épiderme sécréteur ; *A. s. ep.*, assise sous-épidermique ; *M. s. gl.*, massif sous-glandulaire ; *M. vasc.*, massif vasculaire ; *F.l.*, fascicule ligneux ; *A. aq*, anneau aquifère.

et dense. Les réactifs caractéristiqus des tannoïdes n'y font paraître que peu ou pas de ces substances. Le noyau est assez volumineux pour occuper presque toute la largeur de la cellule ; il a, d'ailleurs, souvent une forme allongée.

A tous ces caractères on reconnaît un épiderme différencié en vue d'un rôle sécréteur. L'aspect particulier que prend la cuticule dans la région de la fossette ne laisse, d'ailleurs, aucun doute à cet égard : au lieu de rester adhérente aux cellules épidermiques comme dans l'épiderme normal, les coupes la montrent généralement détachée de cet épiderme et formant au-dessus de lui comme une sorte de cloque, parfois même quelques lambeaux déchiquetés. Il est probable que le mécanisme de l'émission des produits de

Digitized by Google

sécrétion est ici assez analogue à celui que Jürgens a indiqué pour la première fois et que G. Bonnier a décrit à propos des nectaires cotylédonaires de *Ricinus communis* : la zone sous-cuticulaire des membranes épidermiques, transformée en mucilage, absorbe l'humidité, augmente de volume et soulève la cuticule. C'est, d'ailleurs, ce qui se passe aussi, d'après Frömbling, dans les nectaires extrafloraux de divers *Croton*.

Il n'est pas rare d'observer, sur le pourtour de la région sécrétrice, entre les dernières cellules en palissade et les premières cellules épidermiques normales, de minces lamelles offrant les réactions de la cutine et assez analogues à celles que Morini a signalées à la même place dans les nectaires extrafloraux de *Crozophora tinctoria*.

Au-dessous et au voisinage de l'épiderme sécréteur on peut remarquer, même aux faibles grossissements et pour ainsi dire à l'œil nu sur les coupes fraîches, une accumulation notable de chlorophylle : cette partie de la coupe transversale offre une teinte d'un vert beaucoup plus intense que le parenchyme voisin.

L'assise immédiatement sous-épidermique est constituée par des cellules beaucoup plus larges que celles de l'épiderme ; trois de celles-ci, en moyenne, correspondent à une de celles-là. Elles sont, par contre, beaucoup moins hautes, sensiblement isodiamétriques, et présentent, par suite, sur la coupe transversale, une forme assez régulièrement carrée. Leur protoplasme est assez dense ; le noyau, volumineux, en occupe généralement à peu près le centre ; des chloroleucites petits et nombreux y sont assez uniformément répandus. La limite de séparation entre cette assise et l'épiderme est assez nettement tracée et suit, sur la coupe, un trajet presque exactement rectiligne.

Si on s'enfonce plus profondément à l'intérieur du pétiole, on rencontre des petites cellules ayant à peu près la même structure que celles de l'assise sous-épidermique : comme elles, elles ont un protoplasme dense, un noyau plus ou moins central, de nombreux chloroleucites, uniformément répartis. C'est dire qu'elles diffèrent très sensiblement des cellules ordinaires appartenant au parenchyme cortical du pétiole : ces dernières, en effet, sont sensiblement plus grandes ; leur protoplasme est généralement creusé d'une grande vacuole centrale, qui les refoule contre la membrane, où il

Digitized by Google

ne forme plus qu'une couche pariétale ; dans celle-ci se trouvent emprisonnés le noyau, ordinairement plus petit que celui des cellules décrites plus haut, et quelques chloroleucites, moins nombreux que dans ces cellules. Bien que moins régulièrement ordonnées et de forme moins constante que les cellules sous-épidermiques, ces petites cellules sont assez étroitement serrées les unes contre les autres, sans intercalation de méats, et forment un massif assez compact qui va se rétrécissant vers la profondeur et semble s'épanouir sous la fossette sécrétrice, où ses derniers éléments forment l'assise sous-épidermique. Pour fixer les idées et faciliter la suite de la description, désignons ce massif du nom de *massif sous-glandulaire*. C'est au nombre plus grand et à la répartition uniforme des chloroleucites dans les cellules de ce massif que la région sous-glandulaire doit la teinte verte intense qui a été signalée plus haut comme se reconnaissant même aux faibles grossissements.

Au niveau du bourrelet périglandulaire et à quelque profondeur au-dessous de l'épiderme, on voit les cellules du parenchyme pétiolaire prendre des caractères spéciaux. Elles gardent leur forme générale, un peu irrégulière, et leurs dimensions ; mais, en même temps que leur protoplasme et leur noyau se résorbent, leur membrane s'épaissit légèrement, se lignifie et s'orne de petites ponctuations simples. Il paraît difficile de ne pas considérer ces cellules comme ayant un rôle aquifère. Le massif de cellules ainsi différenciées offre, dans son ensemble, à peu près la figure d'un tore disposé parallèlement au faîte du bourrelet périglandutaire : appelons-le, pour abréger, l'*anneau aquifère*. Il est plus ou moins développé suivant les échantillons ; quand deux glandes sont assez voisines, il arrive que, dans les parties où elles se rapprochent le plus l'une de l'autre, les deux anneaux aquifères voisins se confondent en un massif unique. Il est, du reste, parfois difficile de fixer exactement le contour de cet anneau ou de ce massif, même quand tout l'appareil glandulaire a visiblement achevé sa différenciation : les limites de l'anneau ou du massif aquifère sont alors un peu indécises parce que les cellules aquifères les plus extérieures offrent une lignification assez imparfaite et diffèrent faiblement des cellules voisines ; on peut observer, par exemple, des cellules qui, ayant partiellement lignifié leur membrane et ébauché des ponctuations,

Digitized by Google

conservent encore leur noyau, avec un peu de leur protoplasme.

On sait que les cellules dont le contenu se réduit à ces mâcles d'oxalate de calcium, dites communément *cristaux en oursins*, ne sont pas rares chez la plante qui nous occupe. Elles se rencontrent notamment dans la région distale du pétiole, portant les glandes dont il est ici question, et dans l'appareil glandulaire

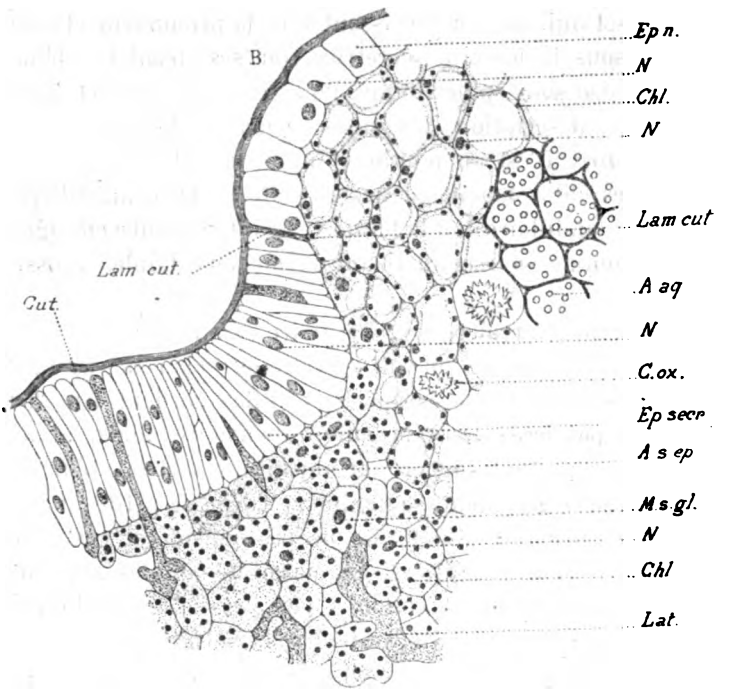


Fig. 14. — Coupe transversale plus grossie, faite au niveau de la fossette glandulaire. — Même légende que pour la figure 1, et en plus : *C. ox.*, cellule à oxalate de calcium ; *Lat*, laticifères ; *Lam cut*, lamelles cutineuses ; *N*, noyaux ; *Chl*, chloroleucites.

lui-même : elles semblent être particulièrement abondantes dans la région du bourrelet périglandulaire voisine de l'anneau aquifère, de telle sorte que le massif sous-glandulaire soit comme entouré par un groupe important de ces cellules.

En étudiant des coupes transversales successives faites dans le pétiole d'*Hevea brasiliensis*, on peut remarquer que l'appareil conducteur vasculaire et l'appareil de soutien de cet organe se réduisent

Digitized by Google

considérablement vers l'extrémité distale. La gaîne sclérenchymateuse continue qui, dans la région moyenne du pétiole, entoure l'anneau libéro-ligneux, s'efface et disparaît. Puis l'anneau libéro-ligneux, continu lui-même dans la région moyenne, se dissocie en un certain nombre de gros faisceaux (7 en général, à ce qu'il

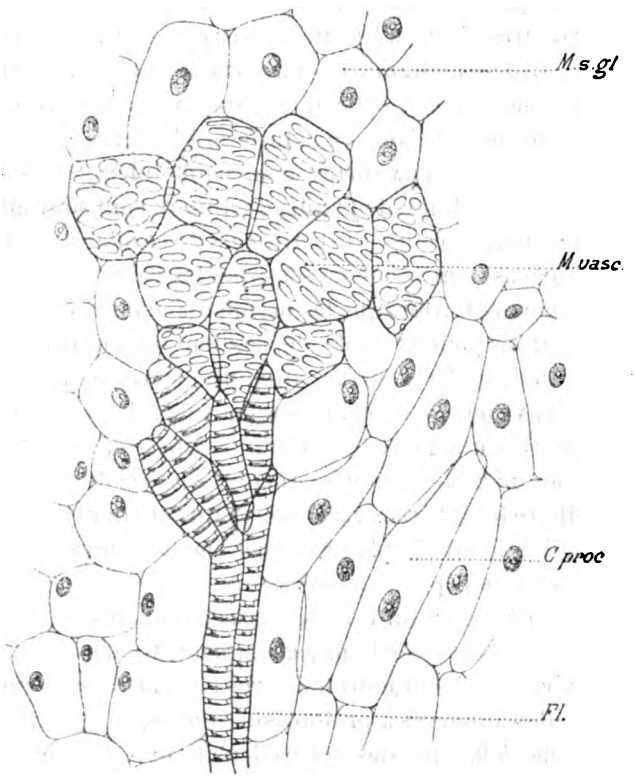


Fig. 15. — Terminaison d'un fascicule ligneux. — *F. l.*, fasciculeligneux; *C. proc.*, cellules procambiales; *M. vasc.*, massif vasculaire; *M. s. gl.*, massif sous-glandulaire,

nous a semblé). Ces faisceaux, à leur tour, se laissent pénétrer par des lames parenchymateuses, qui décomposent chacun d'eux en quelques rangées radiales de vaisseaux. Enfin, dans la région glandulaire, qui est presque entièrement parenchymateuse, ces rangées elles-mêmes se dissocient, et les rameaux vasculaires provenant de cette dissociation suivent des trajets contournés, souvent dans

Digitized by Google

une direction transversale, si bien que des coupes un peu épaisses faites suivant cette direction peuvent en contenir des fragments assez étendus. Ces rameaux peuvent, à leur tour, se résoudre en ramuscules plus petits, réduits à un petit nombre de vaisseaux annelés. Un tel ramuscule vient se terminer au-dessous du centre de chaque fossette glandulaire. Là il aboutit à un petit massif de larges cellules vasculaires, serrées les unes contre les autres, et dont les membranes, fortement lignifiées, offrent une ornementation réticulée, assez différente de celle que nous avons remarquée à la surface des cellules de l'anneau aquifère. D'ailleurs, la forme et les dimensions de ces deux sortes d'éléments diffèrent aussi assez sensiblement. Les cellules de l'anneau aquifère sont souvent à peu près isodiamétriques ; celles du petit massif vasculaire sont généralement allongées dans le même sens que les vaisseaux dont elles sont le prolongement. Alors que les premières, dans un échantillon que nous prendrons pour exemple, dépassaient toujours un diamètre minimum d'environ 30 μ, pour atteindre souvent un diamètre maximum d'environ 75 μ, celles du petit massif vasculaire pouvaient descendre à une largeur minimum d'environ 25 μ et n'atteignaient pas, au maximum, une longueur d'environ 40 μ. — Ce petit massif vasculaire limite assez exactement, du côté interne, le massif sous-glandulaire défini plus haut, lequel vient, d'autre part, s'épanouir au-dessous de l'épiderme sécréteur.

Au niveau où se produit cette dissociation des faisceaux du pétiole que nous avons décrite précédemment, les derniers ramuscules vasculaires semblent entraîner avec eux un tissu particulier, formé de cellules allongées à protoplasme dense, à gros noyau, et alignées les unes à la suite des autres dans le sens de leur allongement, quelque chose d'assez analogue à ce qu'on appelait jadis « procambium ». Sur certains points, ces files de cellules semblent bien continuer le liber des faisceaux pétiolaires, et on peut leur trouver une certaine ressemblance avec ces éléments libériens inférieurs auxquels Strasburger a donné le nom de « cellules de transition » ou « de passage » (*Uebergangzelle*). On observe ces éléments soit au voisinage de la terminaison vasculaire dont il vient d'être question, soit vers la périphérie du massif sous glandulaire.

On sait que l'appareil sécréteur des *Hevea* est surtout constitué

Digitized by Google

par des laticifères dont le contenu blanc et laiteux fournit du caoutchouc : *Hevea brasiliensis* est le vrai Caoutchoutier des rives de l'Amazone. Scott a montré (1) que ces laticifères doivent être considérés comme « articulés », c'est-à-dire d'origine pluricellulaire, et que ceux du pétiole sont localisés dans le liber des faisceaux et dans le parenchyme extérieur. Or, dans la région glandulaire, en même temps que se dissocient les faisceaux, quelques-uns des laticifères se portent, en suivant un trajet capricieux, vers la surface sécrétrice ; ils se ramifient à l'intérieur du massif sous-glandulaire, et leurs extrémités viennent s'y terminer en doigt de gant ; nous en avons vu quelques-unes pénétrer entre les cellules de l'épiderme sécréteur, où elles peuvent atteindre la face profonde de la cuticule : ces terminaisons revêtent alors, à l'intérieur de l'épiderme, une forme assez analogue à celles des cellules épidermiques elles-mêmes, avec lesquelles on peut les confondre.

En même temps que des laticifères, l'appareil végétatif des *Hevea* contient en abondance des cellules tannifères; un travail récent de Gaucher (2) a montré l'importance que prend le développement de ces éléments dans la famille des Euphorbiacées. Dans la région moyenne du pétiole, c'est au voisinage de l'anneau libéro-ligneux, soit en dedans, soit en dehors de lui, que se rencontrent surtout ces cellules, souvent alignées en files longitudinales. Dans la région glandulaire, le parenchyme au milieu duquel circulent les fascicules vasculaires est bourré de ces cellules, et on en trouve aussi en grand nombre dans les parenchymes voisins de la surface sécrétrice, notamment dans le massif sous-glandulaire. Rappelons que le tannin est abondant à l'intérieur des cellules de l'épiderme normal et qu'il fait, au contraire, défaut dans les cellules sécrétrices.

En résumé, dans la structure des petites glandes que nous venons de décrire, les points qu'il nous paraît le plus intéressant de signaler sont les suivants :

(1) D. H. Scott : *Note of the laticiferous tissue of Hevea Spruceana* (Quarterly Journal of Microscopical Science, Vol. XXIV, 1884). — Id., *On the occurrence of articulated laticiferous vessels in Hevea* (Journal of the Linnean Society, Botany, Vol. XXI, 1886).

(2) Gaucher : *Recherches anatomiques sur les Euphorbiacées* (Thèse de la Faculté des Sciences de Paris, 1902).

Digitized by Google

1° Modification de l'épiderme au niveau de la surface sécrétrice (aspect palissadiforme de ses cellules, absence de tannin dans leur contenu, soulèvement de la cuticule) ;

2° Aspect particulier, à ce niveau, de l'assise sous-épidermique et du *massif sous-glandulaire* (cellules relativement petites, à protoplasme dense, à gros noyau, à nombreux chloroleucites) ;

3° Constitution, au-dessous du *bourrelet périglandulaire*, d'une sorte d'*anneau aquifère*, formé de cellules à membranes lignifiées et ponctuées ;

4° Abondance, au voisinage du massif sous-glandulaire, de cellules renfermant des mâcles d'oxalate de calcium en oursins ;

5° Terminaison, au-dessous du centre de la surface sécrétrice, d'un fin ramuscule ligneux que coiffe un petit massif de cellules vasculaires à ornementation réticulée ;

6° Présence, au voisinage du massif sous-glandulaire, de cellules d'aspect procambial, allongées, à protoplasme dense et à gros noyau ;

7° Ramification et terminaison de quelques laticifères à l'intérieur du massif sous-glandulaire ;

8° Abondance de cellules tannifères dans les parenchymes voisins de la surface sécrétrice, et notamment dans le massif sous-glandulaire.

(Travail du Laboratoire de Botanique de la Sorbonne).

Digitized by Google

UNE COLÉOPTÉROCÉCIDIE NOUVELLE

SUR *SALIX CAPREA*

TYPE DE CÉCIDIES FACULTATIVES

par M. Marin MOLLIARD

J'ai trouvé de nombreux échantillons de cette cécidie à la fin d'avril 1901, à Orsay, sur les Saules Marsaults qui bordent les carrières de grès. Elle se forme aux dépens des chatons mâles ; du moins je n'ai rencontré que des inflorescences de ce sexe transformées ; ces chatons ont subi une hypertrophie considérable et forment une masse globuleuse pouvant atteindre 2cm5 de long et autant de large (fig. 16) ; à leur surface proéminent des organes foliacés épais qu'on reconnaît facilement pour être des étamines transformées ; dans l'axe de la galle, on observe une large galerie occupée par une larve de coléoptère sur laquelle nous reviendrons tout-à-l'heure.

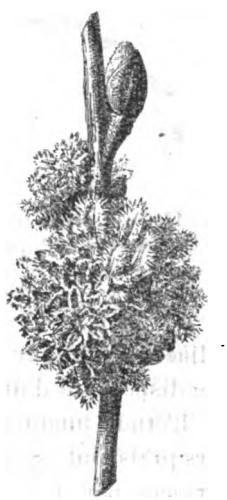


Fig. 16. — Galle développée aux dépens de chatons mâles de *Salix Caprea* (grand. nat.).

L'axe du chaton modifié présente en bordure de la cavité creusée par la larve, un tissu parenchymateux (fig. 17, C), qui s'est divisé activement dans le sens radial, les cellules les plus internes constituant des poils *p* analogues à ceux que l'on observe dans beaucoup de cas de cicatrisation ; il y a prolifération intense des cellules, mais celles-ci ne subissent pas d'hypertrophie. La région vasculaire, au lieu de rester constituée, par des faisceaux libéro-ligneux disposés en un cercle ininterrompu (fig. 17, A),

Digitized by Google

apparaît comme formée par des groupes de vaisseaux qui se sont individualisés (fig. 17, B) ; en dehors de cette région, les cellules se sont multipliées comme dans la zone interne, formant un parenchyme épais, et cette division active s'étend aux différentes fleurs *fl* du chaton.

Ce sont surtout les étamines qui sont intéressantes à observer ; dans un même chaton attaqué on peut trouver toutes les transitions entre des étamines à filet épaissi et à anthères encore facilement reconnaissables, avec leurs 4 sacs polliniques, mais pouvant présenter sur leurs bords ou à leur extrémité (fig. 18, A), des lames de tissu parenchymateux plus ou moins continues, et des organes

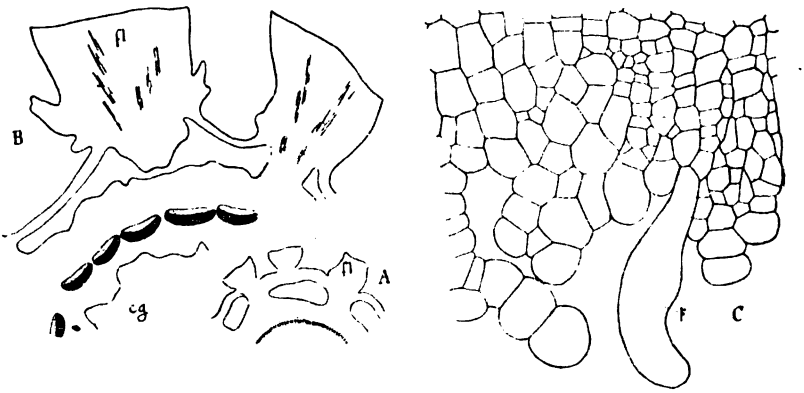


Fig. 17. — *A*, coupe transversale dans un chaton mâle normal ; *B*, dans un chaton hypertrophié ; *fl*, pédoncules floraux ; *cg*, loge de la larve (G. : 8) ; *C*, parenchyme bordant la cavité gallaire ; certaines cellules s'allongent en poils *p* (G. : 160).

foliacés de largeur uniforme dont la représentation (fig. 18, B et C), me dispensera d'une plus longue description.

L'étude anatomique de ces derniers organes nous les montre, lorsqu'ils ont subi la transformation la plus complète, comme formées par deux lames foliacées (fig. 18, G), réunies suivant leur plan de symétrie ; au milieu de la plus large de ces lames on observe quelques faisceaux correspondant à l'unique faisceau du filet et du connectif normaux, et sur les côtés un ou plusieurs faisceaux régulièrement espacés et orientés comme dans le limbe d'une feuille normale ; dans l'autre lame, plus interne que la première par rapport à l'axe de la fleur, on reconnaît aussi des faisceaux libéro-

Digitized by Google

ligneux, mais ceux-ci sont orientés en sens inverse, la pointe de leur bois étant dirigée vers la pointe du bois des faisceaux de la lame précédente; j'ai déjà signalé cette transformation de l'étamine sous l'action de divers parasites, Phytoptides ou Acariens (1); elle correspond à celle que Celakovsky (2) a décrite comme cas tératologique chez le *Dictamnus albus*.

Dans d'autres anthères moins profondément transformées on retrouve l'emplacement des sacs polliniques dont il n'y avait pas trace dans les étamines complètement virescentes; la figure 18, D représente une coupe transversale d'une de ces étamines, où on reconnaît quatre cavités à l'intérieur desquelles se trouvent des cellules dégénérées qui ne sont autre chose que les cellules repro-

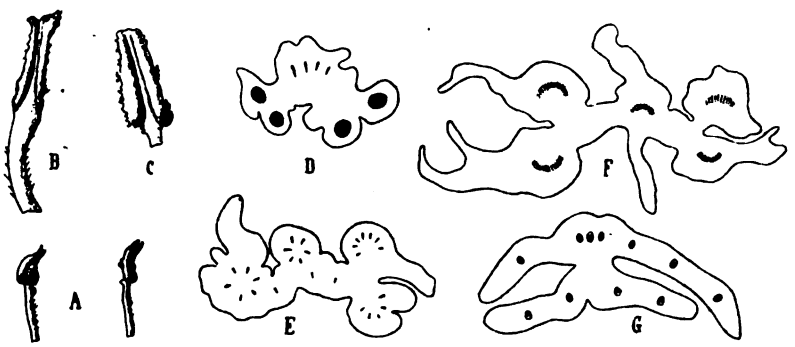


Fig. 18. — *A*, *B*, *C*, étamines plus ou moins modifiées (G. : 2); *D*, *E*, *F*, *G*, coupes transversales dans des anthères transformées à divers degrés (G. : 15).

ductrices arrêtées dans leur développement: la paroi de ces sacs polliniques est formée par l'épiderme et une seconde assise qui ne prend aucun caractère spécial; sur les côtés les assises se prolongent de manière à constituer une lame plus ou moins développée.

On reconnaît encore, dans d'autres étamines, l'emplacement des quatre sacs polliniques, bien qu'il n'y ait pas trace de cellules reproductrices à l'intérieur d'une cavité; tout le tissu est plein et, au lieu du massif pollinique, se trouve un arc de tissu vasculaire qui peut se former sur lui-même et devenir circulaire, comme cela

(1) *Recherches sur les cécidies florales* (Ann. Sc. Nat. Bot. 1895).
(2) *Teratologische Beiträge zur morphologischen Deutung des Staubgefässes* (Jahrb. f. wiss. Bot. XI, 1878).

Digitized by Google

a lieu pour l'arc vasculaire correspondant au connectif (fig. 18, E et F).

J'ai recherché les années suivantes, à l'endroit où j'avais récolté ces cécidies, si les chatons femelles ne pouvaient pas eux aussi être atteints, afin d'examiner, dans le cas de l'affirmative, de quelle manière se comporteraient les carpelles : or, en 1902 et 1903, je n'ai plus retrouvé de galles, même sur les individus mâles ; je n'ai trouvé que des chatons mâles et femelles qui étaient desséchés, sans avoir subi d'hypertrophie, mais à l'intérieur desquels j'ai observé la même larve que dans les chatons hypertrophiés de 1901 ; ce fait m'apparaît comme très important ; il en résulte en effet que le même insecte peut ou bien détruire simplement l'organe dans lequel il vit à l'état de larve et en amener la dessiccation, ou bien déterminer une hyperplasie et modifier la direction dans laquelle se différencie normalement chaque organe.

A quoi attribuer ces changements dans l'action de la larve ? L'explication qui m'apparaît comme la plus raisonnable consiste à admettre que la formation de la galle correspond à une réaction des tissus du chaton qui ne peut se produire que lorsque celui-ci est suffisamment jeune; passé un certain développement les cellules trop différenciées ne sont plus capables de réagir et la seule action de la larve se traduit alors par la mort de celles-ci ; ce serait ainsi qu'au lieu d'étamines plus ou moins foliacées on n'observe dans ce cas que des étamines de constitution normale, mais desséchées. Cette étroite adaptation entre l'état de développement de l'organe attaqué et le moment où il est envahi par l'insecte ne se trouve vraisemblablement réalisée qu'accidentellement pour les chatons du Saule qui sont dans la règle trop développés au moment de l'attaque ; cela expliquerait en outre pourquoi les galles que je viens de signaler sont assez rares et n'ont pas encore été décrites.

La larve qui les produit est une larve de Curculionide, appartenant très vraisemblablement au genre *Dorytomus* (Stephens); plusieurs espèces de ce genre ont été signalées sur les Saules et les Peupliers. C'est ainsi que R. Hartig (1) a observé *Dorytomus majalis* dans le Brunswick sur *S. Caprea*, *S. cinerea*, *S. aurita*... ; ses larves dévoraient la moelle du chaton et abandonnaient leur galerie

(1) Berlin. entomolog. Zeitschr., VIII. 1864, p. 397.

Digitized by Google

vers le milieu d'avril. C'est le même mode d'existence que possède, d'après Brisout de Bonneville (1), *D. maculatus*; sa larve dévore aussi l'axe des chatons de *S. Caprea*; dans les deux cas il n'y avait pas de réaction de la part de la plante; les chatons durcissaient simplement en se desséchant. Il est très possible, d'après ce qui précède, que ces différentes espèces de Curculionides soient capables, quand elles envahissent assez tôt les chatons, de produire des galles semblables à celle que je viens de décrire, c'est-à-dire rentrant dans la catégorie des *galles facultatives*.

(1) Ann. Soc. Entomolog. de Fr. 1864 (Bulletin p. XIX).

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par M. J. LAURENT (*Suite*).

Dans un second essai avec le sucre de canne, 20 cmc. d'extrait sont versés dans une solution chloroformée renfermant 2 gr. 5 de sucre candi pour 100 cmc. d'eau distillée, et après le passage à l'étuve la liqueur contient 1 gr. 512 de sucre interverti ; comme les 20 cmc. d'extrait en renfermaient 0 gr. 240, il s'en est formé sous l'influence de la sucrase 1 gr. 272.

Les graines de Maïs mises en germination à la lumière ont donné 14 gr. 4 de racines et 21 cmc. 1 d'extrait dont 9 cmc. 5 ont provoqué, dans des conditions identiques aux précédentes, la formation de 0 gr. 310 de sucre interverti.

Et ainsi la sucrase contenue dans 100 grammes de racines de Maïs développées à l'obscurité peut hydrater la quantité de sucre de canne capable de donner 7 gr. 524 de sucre interverti, tandis que ce chiffre s'abaisse à 4 gr. 780 pour 100 grammes de racines développées à la lumière. Je retrouve donc dans ces essais le fait bien connu de l'action retardatrice de la lumière dans la formation des diastases, et je puis conclure que *les racines de Maïs, tout au moins pendant la période de germination, renferment de la sucrase et de l'amylase.*

Il était inutile d'étendre ces expériences à d'autres plantes et à d'autres époques de la végétation ; j'ai déjà fait remarquer que le méristème subterminal de toutes les racines en voie de croissance a ses cellules jeunes remplies d'amidon ; la disparition de ces

Digitized by Google

réserves dès le début de la différenciation des tissus implique nécessairement la présence de l'amylase dans la région correspondante de toutes les racines.

Ayant ainsi établi la présence de l'amylase dans les racines, j'ai recherché par d'autres méthodes que celles employées jusqu'alors si cette diastase peut être excrétée. D'après la remarque précédente au sujet de sa localisation, mon attention devait se porter principalement sur la région terminale de la racine plutôt que sur les poils absorbants étudiés plus particulièrement par tous les auteurs.

Quelques essais de culture de diverses plantes (Maïs, Pois, Blé) sur Pomme de terre et sur Carotte en milieux stériles ne m'ont pas donné de résultats ; les racines rampaient à la surface des tranches de Carotte ou de Pomme de terre sans les traverser. Dans un cas seulement j'ai vu une racine de Maïs traverser un fragment de Pomme de terre, mais précisément des filaments mycéliens de *Penicillium* avaient envahi la culture, et il est probable que leur intervention n'avait pas été étrangère au résultat obtenu.

M'inspirant alors de la méthode employée par Brown et Morris (1) dans leurs recherches sur les diastases de l'orge, j'ai fait des essais de culture sur gélose et sur gélatine amidonnées. Le mode opératoire est le suivant :

La gélatine ou la gélose sont préparées avec la liqueur Detmer qui fournira les sels minéraux nécessaires au développement de la plante, puis après stérilisation on les répartit en tubes ou en plaques. L'amidon est stérilisé par un lavage à l'alcool absolu et après évaporation de l'alcool on le distribue soit dans les tubes soit sur les plaques à l'aide d'une lame de platine flambée et avant solidification de la gélatine ou de la gélose ; il suffit d'agiter légèrement dans l'eau froide, jusqu'au moment de la solidification pour répartir à peu près uniformément l'amidon dont les grains se trouvent ainsi disséminés dans le milieu solide.

Des graines stérilisées de Maïs, de Blé, de Pois sont mises en germination, puis quand la radicule a atteint 3 à 4 centimètres de longueur, on introduit les plantules dans les tubes de culture en enfonçant la racine dans le milieu solide et on place les tubes dans

(1) Brown et Morris : *Recherches sur la germination de quelques Graminées.* Journal of the Chem. Society. Juin 1890.

Digitized by Google

une atmosphère saturée d'humidité ; les plantes continuent à se développer ramifiant leurs racines dans la gélatine amidonnée. Lorsqu'elles ont atteint le fond du tube on brise celui-ci et l'on fait des coupes qui sont traitées par l'eau iodée ; on peut même observer au microscope à travers la paroi du tube les racines qui rampent le long du verre et étudier les poils absorbants ou les cellules détachées de la coiffe.

Dans les cultures en plaques, pour éviter l'intervention des diastases de la graine, je plaçais celle-ci en dehors de la plaque, sur un verre de montre contenant de l'eau stérilisée de manière à faire arriver les racines à la surface de la gélose ; une cloche lavée au sublimé recouvrait la culture, et en quelques jours les racines avaient pénétré dans le milieu où leurs poils absorbants formaient un feutrage très-serré enveloppant de toutes parts les grains d'amidon. L'observation microscopique est encore plus facile que dans les cultures en tubes puisqu'elle peut se faire directement si l'on a soin de répandre la gélose en couche mince ne dépassant guère l'épaisseur des racines.

Mes expériences ont été réalisées avec des amidons de diverses provenances : Pomme de terre, Blé, Maïs et dans tous les essais les grains sont restés absolument intacts, aussi bien au milieu des poils absorbants qu'au voisinage des débris de la coiffe. Une tache de *Penicillium* s'étant même développée dans une de mes cultures sur plaques, il était intéressant d'observer le contraste entre la zone occupée par le mycélium, où tous les grains d'amidon étaient digérés ou en voie de digestion jusqu'à des distances très appréciables des filaments mycéliens et la région des poils absorbants à feutrage plus dense encore et à grains d'amidon intacts.

Mes tentatives ayant donc échoué avec l'amidon en grains, j'ai repris les mêmes essais avec l'empois ; il suffit d'introduire l'amidon dans le milieu de culture avant la stérilisation ou même de chauffer vers 100° pendant quelques minutes les tubes préparés antérieurement. On provoque dans ce dernier cas un gonflement, une sorte de dissociation des grains d'amidon de sorte qu'après traitement par l'eau iodée, on peut retrouver chacun des grains primitifs représenté par un amas de granulations.

Là encore il n'y a pas eu sécrétion appréciable d'amylase, et cependant, mon attention s'est portée tout particulièrement sur les

Digitized by Google

jeunes radicelles en voie de formation dans l'espoir d'observer la sortie d'une partie des diastases sécrétées par la poche digestive.

Cependant dans les cultures faites avec empois sur gélose additionnée de 2 pour cent de peptone peut-être utile à la formation des diastases, comme Fernbach (1) a pu le constater dans ses expériences sur la levure de Tantonville, j'ai cru soupçonner un début de digestion au voisinage des cellules de la coiffe. Autour de celles qui sont en voie de destruction, et on les reconnaît à l'amincissement de leur membrane à peine visible et aux larges vacuoles dont est creusé leur protoplasme, les granulations provenant de la dissociation des grains d'amidon m'ont paru sensiblement plus petites, comme si elles avaient subi un commencement d'altération. Si le fait pouvait être établi d'une façon plus certaine, il rappellerait les résultats obtenus par Fernbach sur la sécrétion de la sucrase par *Aspèrgillus niger*, sécrétion d'autant plus active que la cellule est plus vieille et plus usée.

Mais s'il est vrai, comme le disent Brown et Morris que la sortie des diastases est un phénomène d'inanition, les conditions de toutes les expériences précédentes n'étaient pas favorables à la sécrétion, puisque les plantules trouvaient, dans les réserves de la graine, une alimentation abondante. J'ai donc repris ces essais avec des plantules de Maïs privées d'albumen et avec des Pois débarrassés de leurs cotylédons et là encore les grains d'amidon n'ont pas été altérés, ni dans les cultures sur gélose simple, ni dans les cultures sur gélose additionnée de peptone qui aurait pu fournir l'aliment azoté nécessaire à la formation de l'amylase.

Ainsi *dans les conditions de mes expériences, l'amylase contenue dans les racines de Maïs, de Blé, de Pois, n'est pas excrétée dans le milieu de culture.*

Une deuxième hypothèse reste à examiner, celle de l'exosmose, par les graines en germination, soit de sucres réducteurs, soit de diastases.

Dans leurs « *Recherches sur la vie latente et sur la vie ralentie* », Van Tieghem et Bonnier (2) ont déjà montré que les graines immergées laissent échapper une partie des matières solubles

(1) A. Fernbach : *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. III.
(2) Ph. Van Tieghem et G. Bonnier : *Recherches sur la vie latente et sur la vie ralentie*. Bull. Soc. Botan., t. XXVII, p. 116, 1880.

Digitized by Google

qu'elles renferment ; le produit de l'exosmose est du sucre de canne sans glucose avec le Blé, le Maïs, le Pois ; il s'y ajoute du glucose avec le Sarrasin ; et le poids des sucres rejetés est assez notable puisqu'il peut atteindre dans certains cas jusqu'à 13 pour cent du poids total de la graine.

Etant donné que pendant la germination les réserves amylacées de la graine sont transformées en sucres réducteurs, on pouvait s'attendre à voir ces phénomènes d'exosmose acquérir, dans les milieux liquides, une importance plus considérable, au point de faire perdre à la plantule une partie des aliments accumulés pour elle dans la graine.

Mes expériences ont porté sur le Maïs, le Blé, le Pois et le Sarrasin, et la méthode employée a été la suivante : les graines stérilisées sont ensemencées sur du coton humide et après quelques jours de végétation les plantules absolument intactes sont immergées pendant quelques heures dans l'eau stérilisée et saturée de chloroforme ; la liqueur est employée pour la recherche des diastases et le dosage des sucres réducteurs. Avec le Blé, le Maïs, le Sarrasin, le dosage peut se faire directement, mais dans le cas du Pois, il est nécessaire de précipiter tout d'abord par l'acétate de plomb, puis de se débarrasser du plomb par le sulfate de sodium.

1° *Maïs.* — I. 200 graines de Maïs ont été mises en germination le 23 août 1900 ; le 27, la plupart des racines ont atteint 10 à 15 centimètres de longueur. Les plantules sont immergées dans l'eau chloroformée pendant 7 heures et j'obtiens 182 cmc. de liquide. Il en est fait deux parts égales et l'une d'elles est portée à l'ébullition pour détruire les diastases. Les deux parties sont versées chacune dans 50 cmc. d'empois préparé avec 1 gramme d'amidon et maintenues à l'étuve pendant 15 heures en présence de chloroforme. Le dosage indique alors pour la première partie, privée de diastases, 0 gr. 105 de sucres réducteurs et pour la seconde 0 gr. 228.

Les 200 plantules ont donc perdu en 7 heures, $0.105 \times 2 = 0$ gr. 210 de matières sucrées et une quantité de diastases suffisante pour en former $(0,228 - 0,105) \times 2 = 0$ gr. 246.

II. 135 plantules de Maïs, en germination depuis 10 jours et pesant ensemble 100 gr. sont mises à macérer pendant 8 heures dans 356 cmc. d'eau distillée chloroformée ; il y a exosmose de 0 gr. 318 de sucres réducteurs.

Digitized by Google

100 cmc. agissant pendant 14 heures sur 50 cmc. d'empois préparé avec 2 gr. d'amidon, il se forme 0 gr. 366 de sucres réducteurs, et comme les 100 cmc. en contenaient tout d'abord 0 gr. 089, il s'en est formé sous l'action des diastases et principalement de l'amylase 0 gr. 277, soit en tout pour les 356 cmc. de liqueur 0 gr. 986 correspondant à environ 7 milligrammes par plantule.

De même 100 cmc. de liqueur sont ajoutés à 2 gr. de sucre candi sur lesquels on les fait agir pendant 14 heures ; il se forme ainsi 0 gr. 097 de sucre interverti soit 0 gr. 345 pour les 356 cmc.

Enfin avec 50 cmc. de solution agissant dans les mêmes conditions sur 2 grammes de sucre de canne dissous dans 50 cmc. d'eau distillée ; autrement dit avec une quantité de diastase moitié moindre il se forme 0 gr. 040 de sucre interverti, soit pour 356 cmc. 0 gr. 285, chiffre assez voisin du précédent, puisque l'erreur commise sur l'analyse peut atteindre 5 à 8 milligrammes.

III. 40 grammes de plantules de Maïs en germination depuis 8 jours sont immergées dans 148 cmc. d'eau chloroformée pendant 21 heures. La liqueur renferme alors 0 gr. 343 de sucres réducteurs et les diastases qu'elle contient peuvent en former 1 gr. 485 en agissant pendant 2 heures sur l'empois d'amidon et 0 gr. 068 en agissant le même temps sur le sucre de canne.

2° *Blé*. J'ai opéré sur 340 plantules en germination du 2 au 7 août et immergées dans 74 cmc. d'eau chloroformée. Il y a exosmose de 0 gr. 096 de sucres réducteurs et en agissant pendant 15 heures sur l'empois d'amidon, il y a formation sous l'influence des diastases de 0 gr. 300 de matières sucrées.

3° *Pois*. 147 graines de Pois en germination depuis le 2 août sont plongées le 7 pendant 7 heures dans 120 cmc. d'eau distillée. L'exosmose est très faible, ne dépassant pas 1 décigramme de sucres réducteurs ; mais il y a sortie de diastases capables de donner avec l'empois d'amidon 0 gr. 580 de substances sucrées.

4° *Sarrasin*. 800 graines de Sarrasin en germination depuis le 10 août ont été immergées le 17 pendant 8 heures dans 120 cmc. d'eau chloroformée. Il y a sortie de 0 gr. 325 de sucres réducteurs et en agissant pendant 15 heures sur l'empois d'amidon la liqueur provoque la formation de 0 gr. 884 de matières sucrées.

Digitized by Google

Dans ces diverses expériences il y a donc eu exosmose par les plantules à la fois de matières sucrées et de diastases; cette exosmose est d'autant plus prononcée que la germination est plus avancée et que la durée d'immersion dans l'eau est plus grande. Enfin parmi les diastases ainsi entraînées, nous trouvons des quantités appréciables d'amylase, et les recherches qui ont porté sur le Maïs indiquent en outre pour cette plante de très petites quantités de sucrase.

Les résultats obtenus dans mes cultures sur empois s'expliquent ainsi facilement; immergées pendant quelques jours dans le liquide de culture, les graines ont perdu tout d'abord de petites quantités de matières sucrées, puis rejeté de l'amylase qui a pu déterminer la saccharification de traces d'amidon. Comme les cultures ont été interrompues après un mois environ de végétation, les sucres réducteurs ainsi formés n'avaient pas toujours été entièrement réabsorbés, et j'en ai retrouvé des traces à l'analyse. Si au contraire il avait été possible de poursuivre plus longtemps les expériences, toute trace de glucose aurait disparu, absorbé par les racines et consommé par la plante.

Dans les essais avec emploi d'un filet pour suspendre les graines, l'analyse ne m'a donné que de très petites quantités de sucres réducteurs parce que le liquide s'évapore peu à peu, et la graine cesse d'être immergée au bout de quelques jours; au contraire, toutes les fois que j'ai fait reposer directement les graines sur l'empois, la liquéfaction de l'amidon a été sensiblement plus appréciable.

Remarquons enfin que dans un milieu contenant de l'amidon, ces phénomènes d'exosmose peuvent être utiles à la plante, car si elle rejette des matières sucrées au dehors, les diastases éliminées sont capables de former, aux dépens de l'amidon, un poids de sucres réducteurs supérieur à celui qui a été perdu par la graine, et dans un sol riche en débris organiques, il est possible qu'en dehors de l'intervention des organismes inférieurs, ces mêmes phénomènes soient aussi de quelque utilité pour la plante.

Conclusion. — En résumé l'amidon ne peut être digéré par les racines qui utilisent exclusivement l'amidon soluble; toutefois, pendant la période de germination, les diastases issues des graines par exosmose peuvent en provoquer la saccharification mettant ainsi à la disposition de la jeune plante des sucres utilisables.

Digitized by Google

III. — Recherches sur la dextrine

Les résultats obtenus avec l'empois d'amidon font pressentir ce que pourront donner les cultures sur dextrine. La méthode employée n'ayant pas été modifiée, je donnerai simplement sous forme de tableau les chiffres obtenus dans 3 expériences faites avec le Maïs. Les cultures ont duré 24 jours, du 8 août au 1er septembre ; chaque flacon a reçu 2 grammes de dextrine commerciale dissous dans 150 cmc. de liqueur Detmer et deux flacons témoins ont été stérilisés en même temps que les vases de culture.

Tous les dosages ont été exécutés à l'aide de la liqueur de Fehling déjà réduite, comme on sait, par la dextrine du commerce, et j'ai évalué en glucose les poids de substances réductrices obtenues : 1° dans la liqueur de culture ; 2° dans cette même liqueur après hydratation sous l'influence de l'acide chlorhydrique.

Désignation des expériences	Poids sec des plantules (tige et racine)	Poids évalué en glucose de substances réductrices contenues dans la liqueur de culture	Poids total de glucose après hydratation	Poids de matière absorbée évaluée en glucose	Poids de sucres réducteurs formés
Témoins	»	0 gr. 147	1 gr. 600	»	»
1. 2 graines ensemencées pesant ensemble 0 gr. 555.	0 gr. 100	0 — 136	1 — 438	0 gr. 162	»
2. 2 graines ensemencées pesant ensemble 0 gr. 670.	0 — 280	0 — 125	1 — 274	0 — 326	»
3. 2 graines ensemencées. .	0 - 230	0 — 133	1 — 345	0 — 255	»

Il est impossible, dans ces conditions d'analyse, de déterminer la nature des substances réductrices, mais l'examen des chiffres du tableau permet de conclure :

1° Qu'un poids notable de substance a été absorbé ;

2° Que s'il y a eu hydratation partielle de la dextrine sous l'influence des diastases exosmosées par les graines, cette action n'a pas été poussée bien loin puisque les liquides de culture renferment moins de substances réductrices que les témoins.

Digitized by Google

IV. — Recherches sur le saccharose.

Mes recherches sur le saccharose ont été faites à l'aide de cultures en milieux liquides que j'ai stérilisés soit par l'emploi de l'autoclave avec témoins pour déterminer la proportion de sucre interverti, soit en chauffant séparément la liqueur Detmer et la matière organique.

1° *Cultures à la lumière.*

1° Le 5 août 1897, deux graines de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 670 sont stérilisées par deux heures d'immersion dans le sublimé au $\frac{1}{500}$ puis ensemencées dans une solution renfermant 2 gr. de sucre candi pour 250 cmc. de liqueur Detmer. La liqueur sucrée a été portée à l'autoclave. Le 13 septembre, les deux pieds de Maïs bien développés atteignent le sommet de la cloche ; la liqueur est restée parfaitement limpide.

Avec une pipette stérilisée je prélève 3 cmc. de liquide qui sont répartis dans deux tubes de gélose normale, deux tubes de gélose additionnée de moût de raisin et formant un milieu très favorable pour le développement des levûres; enfin dans 5 tubes de bouillon de viande additionné de glycérine et de sucre de canne. Enfin avec des ciseaux flambés je coupe des fragments de racines qui sont répartis dans 4 tubes de bouillon. Ces différents tubes sont maintenus à l'étuve pendant 3 jours à la température de 22° ; ils restent tous entièrement stériles.

Il reste alors 164 cmc. de liquide et après lavage des racines à l'eau distillée, le volume est porté à 214 cmc., soit 217 cmc. 9 en tenant compte des 3 cmc. prélevés pour ensemencement.

100 cmc. sont additionnés de 2 cmc. 5 d'acide chlorhydrique pur et portés au bain-marie pendant une demi-heure ; après neutralisation on obtient 132 cmc. de liqueur dont 10 cmc. 9 réduisent 10 cmc. de liqueur de Fehling correspondant à 0 gr. 0615 de sucre interverti.

Le poids de sucre interverti est de

$$\frac{0{,}0615 \times 132 \times 217{,}9}{10{,}9 \times 100} = 1 \text{ gr. } 622$$

Digitized by Google

Et comme 2 grammes de saccharose correspondent à 2 gr. 105 de sucre interverti, l'absorption, évaluée en sucre interverti a été de

$$2{,}105 - 1{,}622 = 0 \text{ gr. } 493$$

en 39 jours de végétation.

D'autre part 10 cmc. de la liqueur de Fehling sont réduits par 23 cmc. 1 de liqueur sucrée avant interversion, c'est-à-dire que le poids de sucre interverti est de

$$\frac{0{,}0615 \times 217{,}9}{23{,}1} = 0 \text{ gr. } 580$$

Dans une seconde expérience faite exactement dans les mêmes conditions et qui peut servir de témoin, l'une des graines n'a pas germé, l'autre possède une radicule atteignant environ 5 millimètres de longueur, et la tige ne dépasse pas 1 centimètre. La liqueur sucrée contenant encore 2 grammes de sucre candi pour 250 cmc. de liquide Detmer a été stérilisée à l'autoclave en même temps que la précédente. Le 13 septembre il reste 226 cmc. de liquide renfermant à l'analyse 0 gr. 486 de sucre interverti et un poids total de matière sucrée correspondant à 2 gr. 116. Il y a donc eu exosmose par la graine de 0 gr. 011 de substance sucrée évaluée en sucre interverti.

La comparaison de l'expérience au témoin nous amène donc à conclure que le développement des deux pieds du Maïs sur milieux liquides a déterminé la formation d'au moins

$$0.580 - 0.486 = 0 \text{ gr. } 094$$

de sucre interverti puisqu'une partie a pu être absorbée par les racines.

Le poids frais des deux plantes était d'environ 8 gr. 330 ainsi répartis :

Graines.	0 gr. 820	
Racines.	1 gr. 290 +	0 gr. 400 environ conservés pour l'examen microscopique ou ensemencés dans des tubes de bouillon.
Tiges et feuilles . .	5 gr. 820	
Total . . .	7 gr. 930 +	0 gr. 400.

Digitized by Google

La partie non conservée a donné pour poids sec :

Graines.	0 gr. 510
Racines.	0 gr. 190
Tiges et feuilles. .	0 gr. 420
Total	1 gr. 120

2° Deux graines de Maïs dent de cheval pesant ensemble 0 gr. 830 sont ensemencées le 12 août 1898 dans 400 cmc. de solution Detmer renfermant 2 gr. de sucre candi. Le 29 août, la liqueur contient 0 gr. 386 de sucre interverti et un poids de sucre total correspondant à 1 gr. 925 de sucre interverti.

Un témoin fournit 0 gr. 315 de sucre interverti ; la plante a donc absorbé une quantité de sucre correspondant à 0 gr. 200 de sucre interverti et transformé 0 gr. 067 de sucre de canne en sucre interverti.

Le poids sec des deux plantes est de 0 gr. 743 dont 0 gr. 220 pour la tige et la racine.

3° Deux autres graines pesant ensemble 0 gr. 710 ont été ensemencées dans 400 cmc. de solution Detmer additionnés de 2 grammes de sucre candi et stérilisés dans les conditions de l'expérience précédente, mais la culture a été faite dans une atmosphère privée de gaz carbonique. Les deux graines se sont développées et il reste le 29 août 310 cmc. de liquide renfermant 0 gr. 504 de sucre interverti, le poids total de matière sucrée correspondant à 1 gr. 462 de sucre interverti. Le poids sec de la plante n'a pas été déterminé.

En rapprochant ces chiffres de ceux fournis par le témoin, on trouve une absorption considérable, environ 0 gr. 65, en rapport avec les conditions de la culture ; il existe en outre dans la liqueur 0 gr. 189 de sucres réducteurs provenant soit d'une interversion partielle du sucre de canne, soit de l'exosmose par les graines de matières sucrées.

Ces diverses expériences ne nous renseignent que très imparfaitement sur le rôle du saccharose dans la nutrition du Maïs, car il est impossible de spécifier si l'absorption a porté sur le sucre de canne ou sur le sucre interverti formé pendant la stérilisation à l'autoclave, et il était nécessaire d'appliquer une autre méthode pour résoudre la question.

Digitized by Google

4° Dans un flacon à deux tubulures de 2 litres de capacité ayant reçu environ 300 cmc. de liqueur Detmer j'ai ensemencé après stérilisation deux graines de Maïs soutenues par un filet de soie ; les tubulures sont fermées par des tampons de coton. Une seule plante se développe à l'intérieur du flacon ; la seconde graine trop immergée commence à germer puis son développement est suspendu. Le 26 août, après 18 jours de végétation, on ajoute par l'une des ouvertures 1 gr. 118 de sucre candi stérilisé en le chauffant à la température de 110°.

Le 11 septembre, c'est-à-dire 16 jours après, la liqueur contient 0 gr. 031 de sucre interverti pour un poids total de matière sucrée correspondant à 1 gr. 057 de sucre interverti ; l'absorption évaluée en sucre interverti a donc été de 0 gr. 120. Je me suis assuré que le mode de stérilisation du sucre candi n'avait pas provoqué l'inversion.

5° Dans une seconde expérience faite dans les mêmes conditions, deux pieds de Maïs se sont développés ; j'ai ajouté, le 26 août, 1 gr. 422 de sucre candi stérilisé et, le 11 septembre, j'ai retrouvé 0 gr. 051 de sucre interverti pour 1 gr. 312 de matière sucrée également évaluée en sucre interverti ; l'absorption a été de 0 gr. 184.

6° Enfin, dans un troisième cas analogue aux deux précédents, 0 gr. 066 de sucre ont été absorbés et il s'est formé seulement des traces de sucre interverti.

Quoique le poids sec des plantules n'ait pas été déterminé dans ces diverses expériences, leur développement et notamment celui des racines, si l'on en juge par l'aspect extérieur, est bien en rapport avec l'absorption de matières sucrées.

2° *Cultures à l'obscurité.*

Le 6 août 1898 deux graines de Maïs cinquantini pesant ensemble 0 gr. 395 sont cultivées à l'obscurité dans une solution Detmer additionnée de 3 grammes de saccharose. La liqueur Detmer et le sucre de canne ont été stérilisés séparément.

Le 8 septembre, après 33 jours de végétation, on a deux pieds de Maïs bien développés dont les racines remplissent presque entièrement le flacon. L'analyse indique dans la liqueur, après interversion, 2 gr. 109 de sucre interverti. 3 grammes de saccharose correspondant à 3 gr. 168 de sucre interverti, l'absorption a été de $3{,}168 - 2{,}109 = 1$ gr. 059

Digitized by Google

Le poids sec des deux plantes atteint 0 gr. 530 dont 0 gr. 300 pour les racines, la tige et les feuilles. Des graines identiques à celles qui ont été ensemencées ont donné un poids sec de 0 gr. 358 ; l'augmentation de poids à l'obscurité a donc été de

$$0{,}530 - 0{,}358 = 0 \text{ gr. } 172$$

D'autres expériences faites exactement dans les mêmes conditions que la précédente ont donné les résultats suivants :

Poids des 2 graines	Poids sec correspondant	Poids de sucre absorbé	Poids sec de la plante	Augmentation du poids sec
0 gr. 425	0 gr. 375	0 gr. 660	0 gr. 419	0 gr. 042
0 — 340	0 — 315	0 gr. 363	0 — 335	0 — 020
0 — 290	0 — 269	non déterminé	0 — 310	0 — 041
0 — 150	0 — 129	id.	0 — 140	0 — 011

3° *Interversion du sucre de canne par les racines.*

Après la découverte de Meyer et E. Laurent sur la formation d'amidon dans les feuilles aux dépens du sucre de canne, ces diverses expériences ne laissent aucun doute sur la pénétration du saccharose dans les racines de Maïs et sur le rôle de cette substance dans la nutrition de la plante.

Quant à la petite quantité de sucres réducteurs formés, les recherches relatives à la digestion de l'amidon indiquent bien que les graines immergées dans le milieu de culture en ont exosmosé une partie ; que d'autre part des traces de sucrase provenant de la graine ont pu être rejetées ; mais la question de sécrétion de la sucrase par les racines elles-mêmes n'est pas encore résolue, et malgré les affirmations de Molisch (1) on peut se demander si les résultats négatifs indiqués par Duclaux (2) ne méritent pas plus de confiance.

J'ai donc été amené à entreprendre des recherches nouvelles sur l'interversion du sucre de canne en cherchant à réaliser des conditions de stérilisation absolue.

(1) *Loc. cit.*
(2) *Loc. cit.*

Digitized by Google

J'ai fait germer sur du coton humide et stérilisé des graines de Pois et de Maïs traitées au sublimé, puis quand les racines eurent acquis 3 à 4 centimètres de longueur, les plantules furent placées sur des toiles métalliques reposant sur des soucoupes qui contenaient une solution de saccharose stérilisé à l'alcool absolu ; les racines seules plongeaient dans la solution. Toutes les précautions furent prises pour éviter la contamination des cultures pendant le transport des plantules ; et je m'assurai de la stérilisation des racines en faisant passer au préalable chacune d'elles dans une solution stérile de sucre de canne qui a servi de témoin et qui ne s'est pas intervertie pendant la durée des expériences. Voici les résultats obtenus :

1° Le 30 septembre 1902, 20 plantules de Maïs dont la radicule atteint 3 à 4 centimètres de longueur sont placées sur une solution renfermant 4 grammes de saccharose pour 47 cmc. d'eau distillée ; le 2 octobre, après 48 heures, l'analyse indique dans la liqueur 0 gr. 047 de sucre interverti.

2° Avec 15 plantules un peu moins développées que les précédentes et placées exactement dans les mêmes conditions, il s'est formé 0 gr. 022 de sucre interverti.

3° Enfin avec 17 plantules de Pois en germination depuis 8 jours, j'ai obtenu, toujours dans le même temps, 0 gr. 021 de sucre interverti.

Une seconde série d'expériences faite du 25 au 28 juillet m'a donné des résultats du même ordre ; les plantules étaient plus développées, les racines atteignant 5 à 6 centimètres de longueur ; la température était plus élevée et par suite la croissance plus rapide.

1° 23 pieds de Pois dont les racines ont été immergées pendant 73 heures dans une solution contenant 5 gr. 50 de sucre candi pour 72 cmc. d'eau distillée ont donné 0 gr. 109 de sucre interverti.

2° 41 pieds de Pois en ont fourni 0 gr. 134 en 74 heures dans une solution contenant 5 gr. 53 de sucre pour 73 cmc. d'eau distillée.

3° Enfin 23 pieds de Maïs maintenus pendant 55 heures dans une liqueur renfermant 3 gr. 5 de sucre de canne pour 42 cmc. d'eau ont donné 0 gr. 144 de sucre interverti.

On pourrait encore objecter que comme l'a montré Mazé (1) de

(1) Mazé : *Les microbes des nodosités des Légumineuses.* Second mémoire Ann. de l'Institut Pasteur, 1898.

Digitized by Google

petites quantités de glucose peuvent être excrétées par les racines; mais les plantules de la première série d'expériences ayant été disposées de manière à immerger leurs racines pendant 72 heures dans l'eau distillée, je n'ai pu retrouver dans le liquide de trace appréciable de glucose.

Et ainsi *les racines de Pois et de Maïs déterminent très lentement l'interversion du sucre de canne.*

Par analogie avec les observations faites sur l'amidon, je pense, sans pouvoir cependant en donner la preuve expérimentale, que la sucrase rejetée au dehors provient des cellules détachées de la coiffe qui, mieux que les cellules actives, laisseraient exosmoser les traces de diastases qu'elles peuvent contenir.

On peut remarquer que si de petites quantités de saccharose pouvaient pénétrer directement à l'intérieur de la racine, la sucrase contenue dans les cellules du méristème terminal doit en déterminer la transformation immédiate en glucose et lévulose, aussi ne faudra-t-il pas nous étonner de constater plus loin que les solutions de saccharose provoquent les mêmes modifications de structure anatomique que les solutions de glucose.

V. — Recherches sur la glycérine.

Le 5 août 1899, des graines de Maïs dent de cheval sont ensemencées dans la liqueur Detmer additionnée de 1 gr. de glycérine cristallisée pour 150 cmc. de liquide. Des flacons témoins renfermant la même quantité de liqueur et de glycérine ont été passés à l'autoclave dans les mêmes conditions.

Le dosage de la glycérine est exécuté par la méthode suivante : on évapore au bain de sable à une température ne dépassant pas 60 à 70°; le résidu est repris par un mélange à volumes égaux d'alcool et d'éther, puis filtré; on évapore puis on dessèche dans le vide.

La plupart des plantules ont été conservées pour l'étude anatomique de telle sorte que le poids sec n'a été déterminé que pour un petit nombre d'entre elles. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

Digitized by Google

Désignation des expériences et observations	Poids de glycérine absorbée	Poids sec des plantules détachées de la graine
Du 1er septembre		
1. 2 pieds développés dont la tige atteint 30 cm. de hauteur et les racines 15 à 20 cm.; la racine principale est très fortement ramifiée dans les 7 à 8 premiers centimètres	0 gr. 252	»
2. 2 pieds sensiblement moins développés que dans le cas précédent; graines plus volumineuses; ramification moindre des racines	0 — 057	»
3. 2 pieds peu développés	0 — 054	»
4. 2 pieds développés comparables à ceux de l'expérience 2; mais les graines sont beaucoup plus petites	0 — 177	»
5. 1 seul pied développé	0 — 070	»
6 2 pieds comparables à ceux de l'expérience 1.	0 — 285	»
Du 3 septembre		
7. 1 seul pied très vigoureux, à racine abondamment ramifiée et dépassant 30 cm. de longueur	0 — 173	0 gr. 250
8. 1 seul pied moins développé que le précédent	0 — 146	0 — 130
9. 1 seule graine a commencé à germer et la tige ne dépasse pas 4 à 5mm de longueur	0 — 020	»
Du 4 septembre		
10. 1 seul pied remplissant de ses racines tout le flacon	0 — 328	0 — 320
11. 2 plantules à développement moyen	0 — 145	

Ainsi les cultures sur glycérine nous amènent aux mêmes conclusions que les cultures sur glucose ; la glycérine est absorbée par les racines de Maïs et la consommation de cette substance est d'autant plus grande que les graines sont plus petites et que la plantule a pris un plus grand développement.

Enfin les nombreuses cultures de Pois et de Lentilles que j'ai réalisées sur solutions de glycérine m'ont toutes donné des plantes plus vigoureuses que les cultures sur liqueur Detmer seule, démontrant ainsi que cette substance est bien utilisée. Je montrerai plus loin en effet que l'augmentation notable de poids sec, l'abondance des réserves d'amidon accumulées dans tous les tissus parenchymateux, indiquent que la glycérine constitue un excellent aliment pour les plantes.

Digitized by Google

VI. — Recherches sur l'humus.

Une solution d'humate de potassium a été préparée en dissolvant dans un litre d'eau distillée 1 gramme d'acide humique et environ 1 gr. de carbonate de potassium, soit la quantité strictement nécessaire pour saturer l'acide humique, il suffit de porter à l'ébullition pour chasser le gaz carbonique. Les cultures sont faites dans cette liqueur sans addition d'autres sels minéraux qui, à température élevée, déterminent la précipitation de l'acide humique.

J'ai appliqué ma méthode générale de culture en milieux liquides stérilisés et j'ai ensemencé sur filets de soie des graines de Maïs traitées au sublimé. Après 21 jours de végétation, j'ai dosé l'acide humique non absorbé en précipitant la liqueur noire par l'acide chlorhydrique et jetant sur un filtre le précipité qui est lavé à l'eau distillée bouillante puis séché et pesé. La solution primitive soumise au même traitement sert de témoin.

J'ai déterminé en même temps le poids sec des plantules obtenues et celui des albumens. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

Désignation des cultures	Poids sec des graines	Poids d'acide humique absorbé	Poids sec		Perte de poids des graines
			des plantules	des albumens	
1. 3 pieds de Maïs issus de graines pesant chacune 0 gr. 425 .	1 gr. 125	22 mgr.	0 gr. 226	0 gr. 860	0 gr. 265
2. Id.	1 — 125	30 —	0 — 260	0 — 800	0 — 325
3. Id.	1 — 125	20 —	0 — 235	»	»
4. 3 pieds de Maïs issus de graines pesant chacune 0 gr. 396 .	1 — 053	32 —	0 — 240	0 — 745	0 — 308
5. 3 pieds de Maïs cultivés comme témoins dans l'eau distillée.	1 — 125	»	0 — 280	0 — 650	0 — 475

Un examen superficiel de ces chiffres semblerait indiquer que l'humate de potassium a été nuisible à la végétation puisque les pieds témoins ont un poids sec plus élevé ; leur aspect extérieur indique bien en effet qu'ils sont plus vigoureux ; les racines sont

Digitized by Google

beaucoup plus longues, mais aussi beaucoup plus grêles, à poils absorbants mieux développés que dans la solution d'humate.

La considération des poids d'albumen consommés va modifier ces conclusions. La formation d'un gramme de substance sèche dans les plantules correspond en effet à la consommation de quantités d'albumen très variables, savoir :

1 gr. 172	pour l'expérience	. . . .	1	
1 gr. 250	—	—	2	
1 gr. 310	—	—	4	
1 gr. 696	—	—	5	témoin

soit un excédent de 0 gr. 452 pour la culture dans l'eau distillée sur la moyenne des résultats donnés par les 3 cultures sur humate de potassium. Il est vrai que ces derniers ont consommé respectivement pour former 1 gramme de poids sec.

97mgr.	d'acide humique dans l'expérience	.	1
115mgr.	— —	.	2
133mgr.	— —	.	4

soit une moyenne de 115 mgr. et l'on peut se demander si 115 mgr. d'acide humique ne rempliraient pas le même rôle pour la plante que 0 gr. 452 d'albumen.

En se reportant aux analyses de Wolff (1), on voit qu'il entre dans la composition moyenne des grains de Maïs 78,5 pour cent du poids sec d'hydrates de carbone et environ 4,5 pour cent de matières grasses dont la composition centésimale est un peu différente ; mais on peut avec une approximation suffisante considérer l'albumen comme renfermant environ 86 pour cent de son poids de composés ternaires répondant sensiblement à la formule générale $C^6H^{10}O^5$. Si d'autre part nous admettons pour l'acide humique extrait du sol la formule $C^{20}H^{18}O^9$ indiquée par Detmer (2), il est facile de calculer que les 115 mgr. d'acide humique absorbés par les plantules de Maïs pendant la formation d'un gramme de matière sèche renferment le même poids de carbone que 154 mgr. d'hydrates de carbone ou 179 mgr. d'albumen de Maïs.

J'ignore quelles transformations l'acide humique peut bien subir à l'intérieur des tissus, s'il est complètement oxydé de manière que tout son carbone soit amené à l'état de gaz carbonique ou si une

(1) L. Grandeau : *Tables de Wolff*, 1897.
(2) Dictionnaire de Wurtz : Article *ulmine*.

Digitized by Google

oxydation ménagée pourrait le faire servir à la formation d'hydrates de carbone, mais quel que soit le sort qui lui est réservé, il faut reconnaître que la consommation de carbone pour obtenir le même poids sec est sensiblement moindre pour les pieds de Maïs développés sur humate que pour les cultures sur l'eau distillée, la différence correspondant à 452 — 179 = 273 milligrammes d'albumen pour 1 gramme de matière sèche.

Les expériences de Déhérain et Bréal (1) doivent être interprétées de la même manière ; elles ont montré que 10 graines de Blé dont le poids sec était de 0 gr. 45 ont donné dans l'eau distillée des plantules qui desséchées pesaient 0 gr. 300, alors que dans la matière noire extraite du sol et désignée du nom d'ulmate de chaux, le poids sec de 10 plantules atteignait 1 gr. 050.

Rapportant comme je l'ai fait plus haut la consommation de l'albumen à la formation d'un gramme de matière sèche, on arrive aux chiffres ci-dessous :

Dans l'eau distillée, 1 gr. d'albumen consommé par gramme de matière sèche ;

Dans l'ulmate de chaux, 0 gr. 376 d'albumen consommé par gramme de matière sèche, d'où un bénéfice de 624 mgr. d'albumen correspondant au point de vue du carbone à 466 mgr. d'acide humique.

Les auteurs n'ont pas déterminé le poids d'ulmate absorbé, mais il est très-vraisemblable qu'il a été bien inférieur à ce chiffre puisque, dans mes expériences sur le Maïs il ne dépasse guère $\frac{1}{8}$ du poids sec des plantules; de plus les chiffres indiqués par Liebig montrent que pour dissoudre 466 mgr. d'acide humique à l'état de sel de calcium il faut 1087 cmc. d'eau distillée et il n'est guère probable que l'absorption ait été aussi active.

Les cultures de lentilles sur ulmate ont donné des résultats de même ordre, et ainsi j'arrive à cette conclusion que, *à la concentration employée, l'humate de potassium et l'ulmate de chaux modifient les échanges gazeux de manière à activer l'assimilation du carbone.*

A ce point de vue on peut remarquer que ces deux substances ne se comportent pas autrement que la plupart des aliments miné-

(1) P. P. Déhérain et E. Bréal : *Recherches sur l'influence des matières minérales dans la germination.* Ann. agronomiques, t. IX, p. 58.

Digitized by Google

raux de la plante qui, à une dose convenable, déterminent une augmentation de poids sec bien supérieure à la quantité qui pénètre à l'intérieur du végétal. Et si l'on objecte que le résultat obtenu est dû à la potasse et non à l'acide humique, à la chaux et non à l'acide ulmique, je ferai remarquer que la matière noire du sol intervient, comme l'a montré Grandeau (1) dans la solubilisation de la potasse et qu'elle est tout aussi nécessaire que le chlore ou l'acide sulfurique pour l'absorption de cette base par les racines.

Il est même possible de pousser plus loin les conclusions. Dans un travail récent, Krzemieniewski (2) a montré que certains sels minéraux modifient la respiration des plantules de Radis noir ; les sels de chaux sont sans action, mais l'acide azotique et la potasse accélèrent les échanges gazeux tout en conservant une valeur constante pour le rapport $\frac{CO^2}{O}$. Si le résultat peut être étendu à d'autres plantes, il faut admettre qu'en présence des nitrates ou des sels de potassium et pour la production d'un même poids de matière sèche, la perte de carbone doit être plus considérable que dans l'eau distillée, et la consommation des réserves de la graine plus rapide. Dès lors la fonction chlorophyllienne doit présenter une plus grande activité, aussi bien dans mes expériences que dans celles de Déhérain et Bréal.

Ce sont là il est vrai des considérations basées uniquement sur l'induction ; il sera intéressant de les vérifier ultérieurement par l'étude directe des échanges gazeux de la plante.

Une dernière objection relative à l'utilisation de l'humus par la plante a été tirée des expériences culturales de Grandeau dans lesquelles il voyait cette substance s'accumuler à la surface des racines. Mais après les recherches de Petermann (3) et de Dumont (4) il n'est pas douteux qu'une partie tout au moins de la matière noire ne soit dialysable.

A l'appui de cette opinion je puis ajouter que j'ai pu constater la

(1) *Loc. cit.*

(2) S. Krzemieniewski : *L'influence des sels minéraux sur la respiration des graines pendant les différentes périodes de leur germination.* Bull. internat. de l'Acad. d. sc. de Cracovie, mars 1902.

(3) *Loc. cit.*

(4) J. Dumont : *Sur la dialyse des humates alcalins.* Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences, t. 124, p. 1051, 1897.

Digitized by Google

pénétration de l'humate de potassium dans les racines de Maïs. En pratiquant des coupes transversales que l'on traite par l'acide acétique pour précipiter l'acide humique, on peut suivre cette substance depuis les poils absorbants jusqu'aux vaisseaux du bois; l'endoderme dont les parois internes sont épaissies de bonne heure et lignifiées s'oppose bien en partie à l'arrivée de l'humate dans le cylindre central, car les préparations montrent un abondant dépôt de matière noire au contact de cette assise ; mais néanmoins sur les jeunes radicelles simplement écrasées entre lame et lamelle, il est facile de voir que les vaisseaux sont injectés. La matière noire disparaît dans les parties supérieures de la racine si l'absorption est lente, condition réalisée lorsqu'on diminue la transpiration, et dans la tige seulement lorsqu'elle est un peu plus active. Il y a donc utilisation de l'humate absorbé.

Conclusion.— Ainsi l'*humus peut fournir à la plante de petites quantités de carbone ; mais il intervient surtout sous forme d'humate pour activer la fonction chlorophyllienne à la façon d'un aliment minéral.*

On peut remarquer l'importance de ces conclusions pour la pratique agricole ; on connaît en effet la fertilité des sols riches en humus toutes les fois qu'ils renferment une dose suffisante de calcaire et leur stérilité quand le calcaire fait défaut. Non seulement le carbonate de calcium favorise la nitrification et neutralise l'acide humique, mais il réagit sur les engrais potassiques en les faisant passer à l'état de carbonate de potassium ; celui-ci à son tour est décomposé par l'acide humique avec dégagement de gaz carbonique et ainsi il se forme naturellement de l'humate de potassium par une réaction identique à celle que j'ai fait intervenir dans mes expériences. Ce composé peut alors exercer, comme je l'ai montré plus haut, son action favorable sur la végétation.

Conclusions de la première partie

Mes recherches sur le rôle des matières organiques dans la nutrition des végétaux ont été entreprises à l'aide de cultures en milieux liquides stérilisés.

Après avoir montré que les graines de Maïs, de Blé, de Pois, de

Digitized by Google

Sarrasin peuvent être stérilisées par une immersion de une heure et demie à deux heures au plus dans une solution de sublimé au $\frac{1}{500}$, j'ai étudié par diverses méthodes l'absorption de quelques substances organiques, glucose, amidon, dextrine, saccharose, glycérine, humus et leur mode d'utilisation par la plante.

La rapide végétation du Maïs, la facilité avec laquelle il se développe dans les milieux liquides m'ont permis de réaliser avec cette plante la plupart de mes expériences; mais j'ai pris soin de vérifier souvent par des méthodes indirectes, que les résultats généraux obtenus pour le Maïs s'appliquent à d'autres végétaux.

I. *Glucose.* Les racines de Maïs peuvent absorber des poids notables de glucose, dépassant sensiblement le poids sec de la plante toutes les fois que la durée des expériences est suffisante; c'est dire que cette substance est consommée au même titre que le glucose de synthèse et qu'une partie intervient dans les combustions respiratoires.

L'utilisation du glucose absorbé se trouve confirmée par un grand nombre d'expériences.

1° Des graines de même poids et de même origine cultivées avec ou sans glucose donnent, dans le premier cas, des plantes plus vertes, plus vigoureuses et à poids sec plus élevé.

2° Il y a augmentation du poids sec de la graine dans les cultures sur glucose réalisées soit à l'obscurité, soit à lumière, mais en l'absence de gaz carbonique.

3° Comme l'avait déjà montré Acton, le glucose absorbé par les racines peut servir à la formation d'amidon dans les feuilles de Mercuriale annuelle, de Séneçon vulgaire, de Capucine, de Haricot, de Lierre terrestre, de Souci des champs.

4° Dans les cultures en pleine terre, des Betteraves arrosées avec des solutions de glucose ont donné des racines à poids sec plus élevé.

II. *Amidon.* Les racines de Pois et de Maïs développées sur empois d'amidon stérilisé à l'autoclave à une température comprise entre 115 et 120° absorbent une partie de l'amidon soluble formé, et dans les expériences de courte durée, on peut trouver dans le milieu de culture des traces de sucre réducteurs.

Ces sucres proviennent de l'action exercée sur l'amidon par les

Digitized by Google

diastases exosmosées par les graines pendant la période de germination ; mais l'amylase contenue dans les racines de Maïs et de Pois n'est pas rejetée au dehors.

III. *Dextrine.* Les résultats sont analogues pour la dextrine du commerce ; une partie est absorbée par les racines et la digestion externe ne peut avoir lieu que par les diastases rejetées directement par la graine.

IV. *Saccharose.* Le sucre de canne est interverti lentement par les racines de Pois et de Maïs ; mais lors même qu'il pénétrerait à l'intérieur de la racine, il serait immédiatement transformé en glucose et lévulose par la sucrase contenue dans les cellules du méristème terminal. Son utilisation par la plante n'en est pas moins certaine puisqu'on peut obtenir une augmentation de poids sec par des cultures à l'obscurité.

V. *Glycérine.* La glycérine constitue un aliment très favorable pour le Pois et la Lentille chez lesquels elle est mise immédiatement en réserve sous forme d'amidon et les racines de Maïs peuvent en absorber des poids très appréciables.

VI. *Humus.* Le Maïs utilise l'humate de potassium qui agit à la façon d'un aliment minéral en modifiant les échanges gazeux de manière à activer l'assimilation du carbone.

Comme aliment carboné, son importance est faible, il est vrai, vis-à-vis de la fonction chlorophyllienne, mais elle n'est pas négligeable, et dans mes expériences le poids d'acide humique absorbé peut atteindre $\frac{1}{10}$ du poids sec des plantules.

En résumé les racines des plantes vertes peuvent puiser directement dans le milieu extérieur un certain nombre de matières organiques solubles: les unes, directement assimilables, comme le glucose, sont immédiatement utilisées ; d'autres, comme la glycérine, sont en partie mises en réserve sous forme d'amidon qui est digéré ultérieurement à l'intérieur des tissus ; ce n'est que dans des cas exceptionnels que la racine, sans doute par l'intermédiaire de quelques cellules vieilles et usées, rejette des traces de diastases

Digitized by Google

capables de digérer au dehors de petites quantités de saccharose et peut-être aussi d'amidon ; en cela les plantes à chlorophylle diffèrent des Champignons et des animaux supérieurs chez lesquels la sécrétion externe des diastases est toujours très active et leur permet d'utiliser nombre d'aliments insolubles.

Ce n'est pas que la présence de la chlorophylle ait pour conséquence, en dehors de la faculté d'utiliser le gaz carbonique de l'atmosphère, quelque propriété nouvelle du protoplasme qui permettrait d'opposer physiologiquement les plantes vertes à toutes les autres ; mais en rappelant l'idée si suggestive de Brown et Morris qui considèrent la sécrétion externe des diastases comme un procédé de résistance à l'inanition, on peut penser qu'en assurant la nutrition carbonée de la plante, la chlorophylle arrête la sortie, peut-être aussi la production de ces mêmes diastases et que ce caractère une fois établi héréditairement ne puisse plus être modifié expérimentalement que par des cultures nombreuses dans des conditions toutes différentes de milieu.

Les expériences de Brefeld (1) sur le Charbon apportent précisément la lumière sur ce sujet puisqu'elles nous montrent que les sporidies de ce champignon, après s'être multipliées pendant plusieurs mois à la façon des levures dans des milieux de culture qui leur fournissent le carbone sous une forme assimilable, perdent la faculté d'envahir les plantules de Blé, perdent en un mot la propriété de sécréter au dehors les diastases capables de digérer les cellules épidermiques de cette plante.

La Cuscute et les plantes parasites à suçoirs ne se comportent guère autrement, opérant la digestion externe des tissus de l'hôte tant que leur nutrition n'est pas assurée, et que leur vie est en danger, se contentant ensuite de lui emprunter soit par osmose, soit par des relations directes entre leurs systèmes vasculaires les aliments nécessaires à leur croissance.

Et ainsi les adaptations spéciales que présentent les plantes vertes trouvent leur explication dans les conditions physico-chimiques du milieu extérieur.

(1) Brefeld : *Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze.* Berlin, 1883.

Digitized by Google

DEUXIÈME PARTIE.

CHAPITRE PREMIER.

INFLUENCE DES MATIÈRES ORGANIQUES SUR LA CROISSANCE ET LA MORPHOLOGIE EXTERNE DE LA PLANTE.

On sait dans quelles limites étendues peuvent varier la forme extérieure et la structure anatomique de certaines espèces végétales lorsqu'on vient à modifier les conditions de milieu dans lesquelles elles se développent. Non seulement les circonstances extérieures comme l'éclairement, l'état hygrométrique, le développement dans le sol ou dans l'eau, retentissent sur la structure des divers appareils, mais la nature de l'aliment intervient également comme l'ont montré les recherches de Lesage (1) sur le rôle du chlorure de sodium et le travail plus récent de Dassonville (2) sur les éléments minéraux qui entrent dans la liqueur de Knop.

Il est bien tels caractères comme la situation respective du bois et du liber dans la tige et la racine, la position de l'appareil sécréteur dans les divers membres de la plante qui ont acquis, sans doute par hérédité, une constance remarquable, et les variations, plus apparentes chez certaines espèces moins fixées, portent à peu près uniquement sur l'importance relative du parenchyme, le nombre et la répartition des vaisseaux ligneux et des tubes criblés, l'épaisseur et la lignification plus ou moins profonde des membranes cellulaires.

Dans quelle mesure l'addition de matières organiques aux milieux habituels de culture peut-elle intervenir pour modifier la

(1) P. Lesage : *Influence du bord de la mer sur la structure des feuilles*, 1890.

(2) Ch. Dassonville : *Action des sels minéraux sur la forme et la structure des végétaux*, 1898.

Digitized by Google

croissance et la structure de la plante, c'est ce que les recherches antérieures n'ont encore établi que d'une manière très-imparfaite, à raison des difficultés qu'on éprouve à maintenir le végétal dans des milieux organiques à l'abri des bactéries. Dassonville indique en particulier les essais infructueux qu'il a entrepris pour étudier le rôle des matières sucrées ; mais avant lui divers auteurs allemands ont été plus heureux et ont pu poursuivre des cultures pendant quelques jours dans des solutions contenant des sucres ou de la glycérine.

Wieler (1) rapporte ainsi les résultats intéressants qu'il a obtenus avec *Phaseolus multiflorus* immergé dans des solutions contenant de 2,5 à 4 pour cent de glycérine. La croissance en longueur de la racine se trouve brusquement arrêtée, non seulement pour la racine principale, mais encore pour ses ramifications ; mais si l'on observe un arrêt dans le cloisonnement du méristème terminal, la zone cambiale éprouve au contraire une suractivité qui provoque un développement exagéré des formations secondaires et un épaississement anormal de toutes les parties de la racine dont l'aspect coralloïde est manifeste. J'ajouterai même que les dessins publiés par l'auteur indiquent une analogie frappante, tout au moins dans la forme extérieure, entre ces racines de Haricot cultivées sur glycérine et les mycorhizes endotrophiques des Cupulifères, et en l'absence d'un bon dessin d'une coupe transversale, on peut se demander si l'intervention d'un champignon, vivant en symbiose avec la racine, serait étrangère aux résultats obtenus. La tendance à la tubérisation signalée par l'auteur, l'impossibilité de reproduire les mêmes caractères avec d'autres espèces, *Vicia Faba*, *Helianthus annuus*, Pois, Lentille, Radis, enfin l'absence de toute indication relative à une stérilisation des milieux permettent peut-être cette hypothèse, quoiqu'il n'y ait aucune impossibilité physiologique à voir la glycérine provoquer à elle seule les anomalies observées.

En étudiant l'influence de la concentration du milieu sur la turgescence et la croissance de quelques plantes phanérogames, Stange (2) fait des cultures comparées dans des solutions de chlo-

(1) A. Wieler : *Ueber Anlage und Ausbildung von Libriformfasern in Abhängigkeit von äusseren Verhältnissen.* Bot. Zeitung, 47e année, n° 34, 1889.

(2) B. Stange : *Beziehungen zwischen Substratconcentration. Turgor und Waschsthum bei einigen phanerogamen Pflanzen.* Bot. Zeitung, 50e année, n° 16, 1892.

Digitized by Google

rure de sodium, d'azotate de potassium, de glycérine, de glucose. Il reconnaît ainsi que les solutions concentrées ralentissent la croissance en longueur de la tige et de la racine et déterminent, avec la glycérine, un épaississement marqué que l'on n'observe pas, dit-il, dans les solutions isotoniques de glucose. En même temps on voit croître la pression osmotique interne ; alors que les coupes de *Pisum sativum* cultivé dans la solution de Knop sont plasmolysées par une liqueur renfermant par litre $\frac{25}{100}$ du poids moléculaire de AzO^3K, chez les individus cultivés dans la même solution additionnée de 25 gr. 76 de glycérine par litre il faut arriver jusqu'à 0,50 Pm. AzO^3K environ pour déterminer la plasmolyse.

Ainsi la cellule végétale réagit osmotiquement à la concentration du milieu, et comme l'a montré Van Rysselberghe (1) cette réaction osmotique satisfait à la loi de Weber de telle sorte que si l'on désigne par P le pouvoir osmotique exprimé en atmosphères de la cellule soumise à l'action de la glycérine ou de toute autre substance osmotique, par n le pouvoir osmotique normal, on a la relation

$$P - n = c \log \frac{E}{s}$$

E exprimant l'excitation osmotique, s le seuil de l'excitation, c'est-à-dire l'excitation à laquelle ne correspond aucune réaction et c une constante.

Toutes ces expériences faites en milieux incomplètement stérilisés n'ont pu avoir qu'une durée très-limitée, parce que les solutions employées étaient rapidement envahies par des bactéries ; Stange reconnaît ainsi que toutes ses cultures sur glycérine périrent pour cette cause.

Les nombreuses cultures que j'ai dû entreprendre pour arriver aux résultats énoncés plus haut m'ont permis de constater, comme les auteurs précédents, des différences assez notables dans l'aspect extérieur entre les plantes cultivées dans les solutions minérales et les mêmes plantes développées dans ces liqueurs minérales additionnées de matière organique. Ces variations m'ont engagé à reprendre méthodiquement les cultures avec ou sans substance

(1) Van Rysselberghe : *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu*. Bruxelles, 1899.

Digitized by Google

organique pour rechercher si des modifications de structure ne seraient pas provoquées par ces substances.

La plupart de mes recherches ont d'ailleurs porté exclusivement sur le glucose et la glycérine ; l'action exercée par le saccharose est plus difficile à mettre en évidence à cause des petites quantités de sucre interverti qui se forment et qui modifient les résultats en augmentant le pouvoir osmotique des solutions.

1° *Cultures à la lumière.*

Tout d'abord mes premières expériences ont été réalisées avec des milieux peu concentrés, ne renfermant pas plus de 1 à 2 pour cent de matière organique ; mais sauf le cas particulier où la transpiration active des plantules déterminait une concentration notable de la liqueur, je n'ai pu constater aucune différence bien appréciable, ni dans les caractères extérieurs, ni dans la structure anatomique vis-à-vis des cultures réalisées dans les solutions exclusivement minérales. C'est seulement avec 3 à 4 pour cent de glycérine et 4 à 5 pour cent de glucose que l'aspect de la plante commence à se modifier, et de la même manière chez toutes les plantes expérimentées : Pois, Lentille, Maïs, Blé, Seigle.

Cette nécessité de faire intervenir des solutions concentrées s'explique facilement. D'après ce que nous savons sur le rôle du glucose et de la glycérine dans la nutrition de la plante, ces deux substances agissent nécessairement de la même manière que les produits de l'assimilation chlorophyllienne puisque l'une et l'autre peuvent être mises en réserve sous forme d'amidon et reprises ultérieurement à la façon de l'amidon chlorophyllien, préparé par la plante verte dans les cultures à la lumière. Les cultures en solutions organiques ne font donc pas intervenir un élément nouveau dans la croissance de la plante, mais elles ont simplement pour effet d'augmenter la proportion des substances actives.

Ces réflexions me conduiront plus tard à essayer l'influence des matières organiques dans les cultures à l'obscurité ; mais il importe d'observer dès l'instant qu'en présence de la lumière, l'action propre de la substance organique va être masquée en grande partie par une action de concentration du milieu.

Les recherches de Stange et de Van Rysselberghe m'indiquaient donc la voie à suivre, et j'ai repris de nouvelles cultures en

Digitized by Google

employant glucose et glycérine *en solutions isotoniques et à des concentrations progressivement croissantes* ; j'ai expérimenté en même temps avec des solutions isotoniques de chlorure de sodium et d'azotate de potassium dans l'espoir d'obtenir les mêmes modifications de structure anatomique.

Les cultures de Pois (variété *Pois Lévêque*) m'ont donné des résultats particulièrement intéressants. Quelques difficultés matérielles et la nécessité d'obtenir rapidement un grand nombre de plantes cultivées dans des conditions identiques m'ont fait renoncer à l'emploi de filets pour soutenir les graines et toutes mes cultures ont été réalisées sur pierre ponce arrosée avec la liqueur Detmer à laquelle on ajoutait des quantités variables d'aliment organique. Malgré la critique faite par Dassonville de ce mode opératoire, je me suis assuré par de nombreuses expériences préliminaires que les résultats obtenus ne diffèrent pas de ceux que donnent les solutions liquides, à la condition d'employer de la pierre ponce neuve ou fraîchement calcinée et lavée avec le plus grand soin à l'eau distillée bouillante.

D'ailleurs si la ponce ainsi préparée apporte à la plante quelques éléments minéraux, ils sont les mêmes pour toutes les cultures, et la comparaison peut toujours se faire entre les plantes qui ont reçu l'aliment exclusivement minéral et celles qui ont reçu en outre la matière organique. La concordance des résultats obtenus dans les circonstances les plus variées est une justification suffisante du procédé opératoire.

J'introduisais donc la ponce granulée et la liqueur de culture dans des flacons de 1000 à 1500 cmc. ; les flacons fermés par un tampon de coton étaient stérilisés à l'autoclave et dans chacun d'eux j'ensemençais une dizaine de graines aussi identiques que possible et préalablement stérilisées au sublimé. Après 3 à 5 semaines de végétation les plantules atteignaient le sommet du flacon ; elles étaient alors recueillies pour en étudier l'anatomie en ayant soin d'éliminer les quelques pieds anormaux qui peuvent toujours provenir d'une altération de certaines graines par le sublimé.

J'ai montré en effet que le bichlorure de mercure, même en solution très-étendue, non seulement retarde la germination, mais provoque une altération des plantules dès que son action est

Digitized by Google

prolongée au-delà de 1 heure et demie à 2 heures sur les graines de Pois ; et lors même que la durée d'action ne dépasserait pas ces limites, il agit toujours de la même manière sur quelques graines dont le tégument était sans doute préalablement altéré.

Les solutions employées contenaient, outre les sels de la liqueur Detmer à la dose de 1 gramme par litre, des quantités de salpêtre, de sel marin, de glucose et de glycérine respectivement isotoniques de 0,10, 0,125, 0,150, 0,175, 0,200, 0,250, 0,300 du poids moléculaire de AzO^3K. En adoptant le chiffre 3 comme coefficient isotonique du salpêtre, 3,08 pour NaCl, 1,78 pour la glycérine et 1,88 pour le glucose, le tableau ci-dessous exprime en grammes les poids par litre de substances salines ou organiques employées dans mes expériences.

Concentration des Solutions	AzO^3K	NaCl	$C^6H^{12}O^6$	$C^3H^8O^3$
Solution isotonique de 0,10 Pm. AzO^3K.	10 gr. 1	5 gr. 60	28 gr. 7	15 gr. 6
— 0,125 —	12,52	7,00	»	»
— 0,150 —	15,15	8,40	43,1	23,4
— 0,175 —	17,62	9,80	»	»
— 0,20 —	20,1	11,20	57,5	31,2
— 0,25 —	»	»	71.9	39,0
— 0,30 —	»	»	86,3	46,8

Enfin un certain nombre de flacons témoins contenaient exclusivement la liqueur Detmer toujours à la dose de 1 gr. par litre de sels minéraux.

Il importe de remarquer que ces solutions ont été préparées avant stérilisation et que par le fait même du passage à l'autoclave une petite quantité d'eau s'est évaporée, augmentant ainsi la concentration des liqueurs ; mais j'ai pris le soin de peser les flacons avant et après la stérilisation ; chacun d'eux avait reçu exactement 100 cmc. de liquide et la perte de poids a été d'environ 4 grammes, il en résulte qu'au moment de l'ensemencement les liqueurs étaient respectivement isotoniques de 0,104, 0,130, 0,156, 0,182, 0,208, 0,260, 0,312 Pm. AzO^3K.

D'un autre côté, par la transpiration, une certaine quantité d'eau a été éliminée, en même temps qu'un poids appréciable de la substance expérimentée, variable pour chaque flacon de culture

Digitized by Google

pénétrait dans le corps de la plante, et comme j'ignore si des plantes identiques cultivées dans des solutions isotoniques de deux subtances différentes en absorbent des poids isotoniques, il est vraisemblable que mes liqueurs de culture n'ont été rigoureusement comparables, au point de vue osmotique, que dans les premiers jours de la végétation.

Quoique l'analyse des liqueurs n'ait pas été réalisée après culture, il résulte cependant de mes essais antérieurs que la concentration a été croissant pendant toute la durée des expériences, et ainsi les plantes ont pu supporter des concentrations sensiblement plus élevées que ne l'indique le tableau précédent.

Les flacons de culture étaient placés devant une fenêtre recevant directement la lumière solaire tamisée par un rideau assez épais; l'allongement des tiges et la réduction des feuilles dans la liqueur Detmer seule indiquent bien une tendance marquée à l'étiolement.

Après 27 jours de végétation, l'expérience a été suspendue car dans quelques flacons les plantules étaient en voie de dépérissement, notamment dans les solutions de salpêtre et de chlorure de sodium et la comparaison avec les autres milieux n'aurait plus été possible en poursuivant davantage la culture.

J'ai déterminé les longueurs des tiges et des racines principales pour chacun des pieds obtenus, et les moyennes des résultats, exprimées en millimètres sont consignées dans le tableau ci-dessous :

Nature des Solutions	AzO^3K		$NaCl$		$C^6H^{12}O^6$		$C^2H^4O^2$	
	Tige	Racine	Tige	Racine	Tige	Racine	Tige	Racine
Liqueur Detmer seule.	190	75	190	75	190	75	190	75
Liq. Det. + solut. isotonique de 0,104 AzO^3K.	113	55	37	44	95	154	91	86
— — 0,130 —	46	56	33	36	»	»	»	»
— — 0,156 —	50	60	31	30	102	128	80	72
— — 0,182 —	25	45	20	24	»	»	»	»
— — 0,208 —	»	»	»	»	84	86	53	80
— — 0,260 —	»	»	»	»	59	87	55	71
— — 0.312 —	»	»	»	»	44	76	50	65

Digitized by Google

On voit déjà que conformément aux conclusions de Stange la croissance en longueur de la tige se trouve notablement ralentie par les solutions concentrées, mais que d'autre part la pression osmotique n'intervient pas seule dans le phénomène et que chaque substance exerce, à ce point de vue, une action spécifique.

Alors que les influences respectives de la glycérine et du glucose sont très comparables l'une à l'autre, évidemment parce que ces deux substances sont sensiblement utilisées de la même manière par la plante, elles ne peuvent être mises en parallèle avec l'action exercée par les substances minérales, chlorure de sodium et azotate de potassium.

Tout d'abord la plante ne peut supporter de la part de ces dernières, des pressions osmotiques aussi considérables puisqu'il m'a été impossible de faire germer les graines dans les solutions isotoniques de 0,208 Pm. AzO^3K. Encore la tolérance de la plante à l'égard du salpêtre est-elle plus marquée que vis-à-vis du chlorure de sodium puisque les plantules obtenues sont déjà souffrantes au delà d'une solution de sel marin isotonique de 0,130 Pm. AzO^3K, alors qu'elles peuvent encore bien supporter 0,156 Pm. de salpêtre.

Des différences spécifiques du même ordre peuvent être constatées entre le glucose et la glycérine. En ce qui concerne cette dernière, la vigueur de la plante paraît croître constamment avec la concentration dans la limite de mes expériences ; on en aura la preuve plus loin par la comparaison des poids secs. Il n'en est pas de même pour le glucose ; ce sont les solutions isotoniques de 0,208 Pm AzO^3K qui ont donné les plantes les plus vigoureuses, et au delà de ce chiffre, l'influence nuisible du glucose est évidente.

Nous trouvons une nouvelle distinction à faire au sujet de l'action des deux matières organiques étudiées dans l'examen des racines. Entièrement brunes sur glycérine, tout à fait blanches sur glucose, leur mode de ramification n'est pas identique comme on peut s'en rendre compte à l'examen des figures 4 à 13 des planches II et III.

Avec la glycérine, la racine principale est prédominante, elle est plus épaisse et elle dépasse sensiblement en longueur toutes ses ramifications qui restent courtes et trapues ; avec le glucose, les racines secondaires sont plus longues et plus nombreuses. Dans les solutions les plus concentrées, des racines de troisième ordre

Digitized by Google

apparaissent, plus développées sur glycérine que sur glucose. Ce sont là sans doute des variations très-peu importantes ; elles donnent cependant aux plantules un port caractéristique qui ne permet pas de confondre une culture sur glycérine avec une culture sur glucose.

Ajoutons enfin que le mode d'accroissement de la racine est très différent selon qu'on fait agir les sels minéraux ou les composés organiques : alors que les premiers exercent la même action que sur la tige, retardant d'autant plus la croissance que la solution est plus concentrée, on observe au contraire avec les solutions les plus étendues de glycérine et surtout de glucose un allongement notable de la racine qui devient ensuite d'autant moins marqué que l'on fait croître davantage le nombre des molécules dissoutes.

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

KARYOKINÈSE CHEZ LES ASCOMYCÈTES

par M. A. GUILLIERMOND

(Planches 14 et 15)

Les divisions nucléaires qui s'effectuent dans les cellules mères des asques ont été étudiées pour la première fois par Gjurasin et Harper. Le premier décrit dans *Pustularia vesiculosa* une karyokinèse très curieuse, dans laquelle le fuseau achromatique se forme dans l'intérieur du noyau dont la membrane persiste jusqu'à fin de l'anaphase ; l'auteur n'a malheureusement observé que des stades d'anaphase, où les chromosomes sont soudés à chaque pôle en une petite masse chromatique, et n'a pas pu différencier les chromosomes et compter leur nombre. Il décrit un aster aux deux pôles du fuseau. A la fin de la prophase la membrane nucléaire se résorbe et le fuseau s'allonge, puis les deux noyaux filles se constituent. Le nucléole persiste pendant tout le phénomène.

Harper a repris cette étude avec beaucoup de soin et avec une technique irréprochable dans un certain nombre d'espèces : *Peziza Stevensoniana, Ascobolus furfuraceus*, *Erysiphe commune*, *Pyronema confluens, Lachnea scutellata ;* il observe des phénomènes analogues, mais il a pu suivre dans le détail la phophase et la métaphase et a fixé le nombre des chromosomes à 8 dans *P. Stevensoniana*, *A. furfuraceus*, *E. commune*, et à environ 10 dans *Pyronema confluens* ; il ne se prononce pas sur le mode de partage des chromosomes. L'auteur a montré, en outre, que le kinoplasme en se recourbant autour des noyaux contribuait à la formation des spores et à leur dèlimitation.

L'étude de la karyokinèse des Ascomycètes a été reprise, simultanément, dans ces derniers temps, par Maire, par Dangeard et par nous.

Digitized by Google

Maire (9 novembre 1903) décrit dans *Galactinia succosa* une karyokinèse analogue à celles qu'ont décrit les auteurs précédents avec quelques détails en plus. Le fuseau achromatique et les centrosomes sont d'origine intranucléaires ; l'apparition des chromosomes est précédée de la formation de protochromosomes, sorte de granulations de nombre et de forme variables qui se fusionnent pour constituer un nombre fixe de chromosomes ; ce nombre est de 4. Ces chromosomes se partagent par division longitudinale suivie d'étirement comme dans les Hygrophores. Le kinoplasme joue un rôle prépondérant dans la formation des spores.

Dangeard (10 décembre 1903) arrive, de son côté, à des résultats analogues dans *Pyronema confluens*, mais, à l'encontre de Harper, il n'observe que 4 chromosomes. Il s'autorise des résultats de Maire et d'observations qu'il a faites lui-même dans quelques autres espèces où il a retrouvé ce nombre 4, pour conclure que le nombre des chromosomes est peut-être constant pour les Ascomycètes comme il paraît l'être pour les Basidiomycètes, d'après les récentes recherches de Maire ; ce nombre, qui est de 2 pour ces derniers, serait de 4 dans les Ascomycètes.

Nous avons nous aussi obtenu les mêmes résultats (15 juin et 30 décembre 1903) dans *Aleuria cerea* et *Otidea onotica*, sauf en ce qui concerne le nombre des chromosomes qui est très vraisemblablement de 8 dans *Aleuria cerea* et probablement aussi dans *Otidea onotica*.

Nous disposions d'échantillons de quelques autres espèces et nous avons pensé qu'il serait peut-être intéressant de continuer des recherches sur ce sujet. Nous nous sommes adressé aux quatre espèces suivantes : *Peziza Catinus*, *Pustularia vesiculosa*, *Ascobolus marginatus* et *Peziza rutilans*. Nous avons, en même temps, étudié la formation des asques et l'épiplasme de ces espèces.

La technique employée est celle que nous avons indiquée dans nos précédentes recherches cytologiques sur les Ascomycètes. Les fixations ont toujours été faites au Flemming, sauf dans les cas où nous avons voulu différencier les corpuscules métachromatiques et où nous avons dû recourir au picroformol. Les quatre procédés de colorations qui se sont montrés les plus favorables sont : la diamantfuchsine, lichtgrün ; le bleu polychrome de Unna ; la safranine, lichtgrün ; et l'hématoxyline ferrique, lichtgrün.

Digitized by Google

I. Peziza Catinus *Holmsk.*

Les cellules mères des asques possèdent une structure analogue à celle que nous avons constatée dans les autres Ascomycètes avec un cytoplasme alvéolaire dans lequel on rencontre quelques corpuscules métachromatiques ; au milieu de la cellule est une bande étroite de cytoplasme homogène où se trouve le noyau. Ce dernier est formé d'un réseau chromatique très fin, acidophile et d'un nucléole souvent spongieux, toujours basophile. Nous n'avons pas pu observer d'une manière précise les premiers stades de la prophase : cependant certaines figures, précédant la karyokinèse, montrent des noyaux possédant, dans leur réseau chromatique, quelques granules basophiles, et d'autres, où le réseau se condense, et où les grains basophiles se concentrent vers le centre ; dans aucun cas, nous n'avons mis en évidence les protochromosomes signalés par Maire dans *Galactinia succosa*. La prophase se manifeste par la formation d'un fuseau acidophile, assez large et très renflé à sa partie médiane, dont on distingue assez nettement les stries. Ce fuseau aboutit à chacun de ses deux pôles à un petit centrosome basophile, légèrement réniforme, entouré d'un aster très difficile à différencier. Les chromosomes sont placés vers le milieu du fuseau ; ils sont basophiles. Leur nombre est voisin de 12. Le nucléole reste situé sur un côté du noyau sans subir aucune variation de chromaticité, ni de volume ; cependant sa structure spongieuse disparait souvent et il laisse voir une vacuole médiane (Pl. 14, fig. 2). La métaphase est caractérisée par un nombre beaucoup plus considérable de chromosomes qui se disséminent sur toute la longueur du fuseau ; ces derniers sont toujours alors au nombre d'une vingtaine ; quelques-uns d'entre eux, observés à un très fort grossissement, paraissent allongés en bâtonnets, d'autres ont la forme de V ou d'U, mais leur dimension est trop petite pour que l'on puisse se rendre compte de leur mode de partage : certaines figures cependant font penser à une division longitudinale des V suivant le procédé ordinaire (Pl. 14, fig. 3). Au début de l'anaphase, le noyau qui, jusqu'à ce moment, n'avait subi aucune modification de forme, s'allonge, son fuseau s'élargit de façon à occuper presque toute la largeur du noyau et les stries de ce fuseau deviennent plus dis-

Digitized by Google

tinctes. Les chromosomes se rangent alors aux deux pôles et, dans toutes les figures observées, leur nombre s'est montré à chaque pôle de 12 ou très rapproché de ce chiffre. Le nombre des chromosomes de cette espèce est donc vraisemblablement de 12 (Pl. 14, fig. 6 et 7). Plus tard, les chromosomes se rapprochent les uns des autres, se réunissent à chacun des deux pôles du fuseau en une seule masse confuse ; puis la membrane se résorbe brusquement, (Pl. 14, fig. 8 et 9) le fuseau s'allonge (Pl. 14, fig. 9) et se rétrécit ; et en même temps les deux masses chromatiques ont pris l'aspect de petites calottes, laissant apercevoir dans leur concavité quelques fins rayons, qui représentent le stade diastroïde ; à ce moment la figure karyokinétique apparaît formée des deux diasters réunis par du nucléolyaloplasme traversé par les stries du fuseau (Pl. 14, fig. 12 et 14), le nucléolyaloplasme finit par disparaître, Pl. 14, fig. 10) sauf au voisinage nucléole qui reste entouré d'une zone hyaline ; puis les dernières traces du fuseau disparaissent à leur tour et les deux diasters montrent alors dans leur concavité un peu d'hyaloplasme, puis se transforment en deux noyaux fils, formés de l'ancienne calotte du diaster dont les deux bords apparaissent reliés par une fine membrane et dont la concavité est remplie d'hyaloplasme traversé par de minces rayons chromatiques (Pl. 14, fig. 15). Bientôt après, on voit apparaître, dans chacun de ces noyaux, un nucléole, et les noyaux reprennent leur structure normale avec réseau chromatique acidophile. Le nucléole du noyau père diminue de volume et ne tarde pas à disparaître.

La première division se produit d'ordinaire obliquement par rapport à l'axe longitudinal de la cellule ; les secondes se font suivant cet axe et dans des plans parallèles l'un à l'autre, et les troisièmes perpendiculairement à l'axe longitudinal. Ces différentes orientations ont pour effet de donner naissance à deux rangées latérales de quatre noyaux, formant deux rangées de spores : les huit noyaux montrent chacun un centrosome accolé à leur paroi. Ces trois séries de divisions s'effectuent d'une manière absolument analogue et dans toutes on peut compter une douzaine de chromosomes. Les asters, qui ne se laissent différencier qu'exceptionnellement pendant les divisions nucléaires, apparaissent presque toujours lors de la formation des spores et contribuent à la délimitation des spores en se recourbant autour des noyaux.

Digitized by Google

Les spores renferment un seul noyau au centre ; les deux pôles sont occupés par un cytoplasme alvéolaire dont les mailles sécrètent des globules d'huile ; ces derniers d'abord nombreux et de petite taille finissent par se fusionner à chaque pôle en un énorme globule. Cette Pezize ne renferme pas de glycogène.

II. Pustularia vesiculosa *Bull.*

Les cellules mères des asques se forment par le procédé ordinaire qui a été décrit avec beaucoup de soin par Dangeard, dans cette même espèce, et sur lequel nous ne reviendrons pas ; elles possèdent un noyau analogue à celui de *P. Catinus*, formé d'un nucléole spongieux, basophile et d'un réseau chromatique acidophile. Ce noyau est situé au milieu de la cellule, dans une étroite bande médiane de cytoplasme homogène ; le reste de la cellule est occupé par un cytoplasme alvéolaire, renfermant un grand nombre de corpuscules métachromatiques. Lorsque les cellules mères ont atteint leur développement complet, elles sont constituées, dans leur moitié supérieure, d'un cytoplasme alvéolaire à l'extrémité, et d'une bande de cytoplasme homogène renfermant le noyau, vers le milieu de la cellule ; dans leur moitié inférieure, l'extrémité supérieure montre un cytoplasme alvéolaire à corpuscules métachromatiques, et toute la portion inférieure est occupée par une grosse vacuole traversée par quelques cordons parallèles de cytoplasme et renfermant du glycogène et, en outre, une substance liquide, opaque, prenant une coloration diffuse par le bleu de méthylène, la safranine et la diamantfuchsine, qui correspond très probablement à ce que Maire a signalé dans *Galactinia succosa* comme latex (1).

Au moment de la division nucléaire, la bande de cytoplasme homogène renfermant le noyau s'accroît beaucoup en longueur. Cette division nucléaire s'effectue par une karyokinèse tout à fait analogue à celle que nous avons signalée dans *Aleuria cerea* : Gjurasin l'a décrite très exactement dans l'ensemble, mais n'a pas suivi tous les stades dans le détail. Nous n'avons pas pu

(1) Nous avions observé quelquefois des productions analogues dans l'épiplasme des Ascomycètes et notamment dans *Aleuria cerea*, mais nous les avions laissées de côté intentionnellement, ne sachant à quoi elles pouvaient correspondre.

Digitized by Google

observer le début de la prophase et la formation des chromosomes ; on aperçoit d'abord un fuseau achromatique très mince, au milieu duquel se trouvent de très petits chromosomes basophiles, ponctiformes, généralement au nombre de 8 ; ce fuseau est relié à ses deux pôles par un centrosome basophile et entouré d'un aster très net ; les centrosomes, très gros par rapport aux chromosomes, sont toujours logés dans une petite échancrure du noyau : ils sont ordinairement réniformes et c'est dans leur cavité que s'emboîte le fuseau (Pl. 14, fig. 16). Il n'est pas possible de se rendre compte du mode de partage des chromosomes. Au début de l'anaphase, ces derniers apparaissent groupés aux deux pôles et c'est à ce moment que leur numération est le plus facile : leur nombre est toujours de 8 ou très voisin de ce chiffre, (Pl. 14, fig. 17). A un stade plus avancé, les chromosomes se soudent à chaque pôle en une seule masse chromatique très petite. En même temps, les asters cessent généralement d'être visibles, le noyau s'allonge et la membrane nucléaire finit par se résorber : cette résorption paraît commencer sur un des côtés latéraux du noyau et tout près du nucléole. Pendant que la membrane disparaît, le fuseau s'allonge beaucoup en se rétrécissant : souvent, il se brise au voisinage du nucléole et les deux portions ainsi séparées, ainsi que les deux masses chromatiques placées chacune à l'une des extrémités, prennent des directions obliques par rapport au nucléole et décrivent un angle obtus. Le nucléole persiste jusqu'après la formation des deux noyaux fils ; ceux-ci apparaissent d'abord très petits, avec de la chromatine peu visible, condensée en un petit granule ; ils se munissent bientôt chacun d'un nucléole.

Les axes des deux premières divisions sont longitudinaux et celui de la troisième est transversal, ce qui donne la disposition distique des spores. Toutes les divisions sont analogues à la première. Dans la troisième, les asters subsistent, ainsi que les centrosomes, pendant toute la durée de l'anaphase : lorsque la division est terminée, les noyaux apparaissent au nombre de quatre sur chacune des parties latérales de la cellule, tout près de sa paroi ; ils sont généralement munis chacun d'un petit bec dont la partie supérieure est occupée par le centrosome aplati, accolé à la membrane cellulaire et muni de chaque côté d'un faisceau de fibrilles de l'aster (Pl. 14, fig. 20). Ils sont entourés d'un peu de cytoplasme

Digitized by Google

dense, tout le reste de la cellule étant alvéolaire ; les nucléoles, provenant des 4 noyaux pères qui ont fourni cette génération, subsistent quelque temps sur la partie médiane de la cellule. A un stade ultérieur, les fibrilles des asters se recourbent autour du noyau et contribuent à la formation et à la délimitation des spores (Pl. 14, fig. 21). Les spores, d'abord très petites, grossissent peu à peu et s'entourent d'une membrane cellulosique. Au moment de la formation des spores, les corpuscules métachromatiques et le glycogène disparaissent presque entièrement et il reste seulement de gros globules d'huile qui ne sont absorbés qu'un peu plus tard. Cette disparition précoce des corpuscules métachromatiques est cause que, dans un précédent article, nous avions laissé penser, sans toutefois l'affirmer, que cette espèce ne renferme pas de corpuscules métachromatiques. Cela provenait de ce que nous avions observé des asques trop âgés.

Les spores renferment un seul noyau ; elles ne possèdent pas d'huile.

Ascobolus Marginatus *Patouillard.*

Nous avions déjà figuré des stades de division, sans toutefois les décrire et sans y attirer l'attention, à propos de l'étude de l'épiplasme de cette espèce. L'une de ces figures est inexacte ; l'erreur provient sans doute d'une déformation provoquée par une mauvaise fixation. Nous avons pu nous assurer depuis que les mitoses des cellules mères de l'*Ascobolus marginatus* s'effectuent d'une manière analogue aux précédentes; nous n'avons pas prolongé suffisamment cette étude pour pouvoir nous prononcer sur le nombre de chromosomes.

Peziza Rutilans *Cooke.*

Cet Ascomycète, récolté au mois d'octobre aux environs de Lyon sur de la mousse humide, correspond à l'espèce décrite par Cooke (*Micographie* n° 57) sous le nom de *Peziza rutilans*, bien qu'il ne soit peut-être pas identique à l'espèce de Fries et de Quélet. Cette espèce présente des caractères histologiques très curieux et très différents de ceux de tous les autres Ascomycètes étudiés

Digitized by Google

jusqu'ici. Elle renferme partout, dans les cellules du périthèce, un gros noyau, bourré de chromatine, comparable par sa grande taille et sa haute différenciation, à celui des Phanérogames. Les cellules du pseudoparenchyme offrent généralement un seul noyau ; quelquefois deux ou trois (Pl. 14, fig. 22). Les paraphyses en présentent un ou plusieurs par article ; ces noyaux, trop gros par rapport au faible diamètre des articles, sont ordinairement très allongés et suivent le contour des articles. Aux extrémités supérieures des paraphyses, on observe fréquemment des stades diatroïdes d'une karyokinèse qui s'effectue (Pl. 14, fig. 27) d'une manière analogue à celle que nous décrirons plus loin dans les cellules mères des asques.

Les cellules mères des asques naissent, selon le procédé ordinaire, par formation de crosses. Nous sommes parvenu à observer la division nucléaire dans les filaments producteurs des crosses : le filament, une fois recourbé, possède deux noyaux qui ne tardent pas à subir chacun simultanément une mitose ; malheusement, ici comme dans les paraphyses, nous n'avons rencontré que des stades diastroïdes et nous n'avons pas pu compter le nombre des chromosomes, ce qui eût été très important et eût pu permettre de résoudre la question de la réduction chromatique chez les Ascomycètes. Deux des nouveaux noyaux se placent chacun dans un des manches de la crosse, et les deux autres, les deux du milieu, dans la partie bombée : celle-ci se sépare des deux manches par la formation d'une cloison et produit ainsi une cellule binucléée ; les deux noyaux de cette dernière se fusionnent ; les stades de fusion sont indiqués par des figures à un seul noyau, de volume double des précédents, renfermant pendant quelque temps deux nucléoles. La fusion opérée, la cellule produit un diverticule dans lequel s'introduit le noyau, en se déformant et en s'allongeant, et qui devient la cellule mère d'un asque (Pl. 14, fig. 23 à 26).

Les cellules mères, une fois développées, sont constituées, chacune, dans leur moitié supérieure, d'un cytoplasme homogène dans la région inférieure duquel est situé le noyau, et, dans leur moitié inférieure, d'un cytoplasme alvéolaire, renfermant quelques corpuscules métachromatiques. La cellule est imprégnée de glycogène. Le noyau montre un très gros nucléole spongieux, basophile,

Digitized by Google

de forme discoïdale et accolé à la membrane, et un réseau chromatique acidophile très enchevêtré (Pl. 14, fig. 28).

Au début de la première mitose, on observe un épaississement du réseau chromatique, lequel se concentre généralement vers la périphérie du noyau et se fragmente en granules de dimensions et de formes variables, qui paraissent ne pas être en nombre constant et qui rappellent les protochromosomes décrits par Maire dans les Basidiomycètes et plus récemment dans *Galactinia succosa* (Pl. 14, fig. 29). Bientôt, la membrane nucléaire se résorbe et le nucléoplasme est traversé par un fuseau achromatique qui paraît être d'origine nucléaire. Ce fuseau occupe entièrement le nucléoplasme ; il laisse distinguer très nettement ses stries. Le nucléole cesse ordinairement d'être spongieux et présente une seule grosse vacuole. C'est à ce moment qu'on voit apparaître les véritables chromosomes : ces derniers se rangent au milieu du fuseau ; ils sont très gros et présentent presque tous la forme de V ou d'U, ils sont très difficiles à compter, par suite de leur grand nombre ; néanmoins, ce nombre paraît toujours supérieur à 10 (Pl. 14, fig. 30). Nous n'avons jamais pu parvenir à mettre en évidence, ni aster, ni centrosome; toutefois dans les préparations obtenues à la diamantfuchsine, lichtgrün, nous avons observé parfois aux deux pôles du fuseau une petite masse faiblement colorée en vert qui représentait peut-être le centrosome, mais qui aussi pouvait être due simplement à la convergence des stries du fuseau. A la métaphase, le nombre des chromosomes devient toujours voisin d'une trentaine. Il est très difficile de suivre le partage de ces derniers et nous ne pourrons donner sur cette question aucune affirmation. Néanmoins, tous les aspects qu'ils prennent nous laissent penser qu'ils se divisent longitudinalement suivant le procédé normal décrit dans les Phanérogames. On rencontre (Pl. 14, fig. 30 à 36 et Pl. 15, fig. 1 à 8) un grand nombre de chromosomes affectant la forme de losanges, dont quelques-uns laissent apercevoir une lumière à leur centre ; d'autres figures représentent deux V, dirigés en sens inverse et se regardant par leurs angles $\left(\begin{smallmatrix}\wedge\\ \vee\end{smallmatrix}\right)$; souvent aussi, on observe des chromosomes groupés par 4 et qui paraissent résulter du sectionnement d'un V vu transversalement; on trouve enfin quelques figures en X. Cette division des chromosomes est toujours

Digitized by Google

suivie d'étirement; c'est ainsi que les chromosomes venant de se diviser, en se dirigeant vers l'un des pôles, présentent très souvent des formes de crochets; quelquefois, on remarque deux crochets dirigés en sens opposés sur la même ligne (⌈ ⌋); souvent, le partage du chromosome n'étant pas achevé, les deux crochets sont réunis par leur manche ([ ]). Ces figures de partage rappellent en somme toutes celles qui ont été décrites dans les mitoses des animaux et des végétaux supérieurs et en particulier celles qui ont été figurées par de Sinéty, dans les karyokinèses des Phasmes. A l'anaphase, le fuseau achromatique s'allonge un peu, et les chromosomes émigrent aux deux pôles; ils ont presque toujours la forme d'U ou de V; ils sont alors beaucoup plus faciles à compter; dans toutes les figures observées, leur nombre s'est montré de 16 ou très voisin de ce nombre et l'on doit admettre, à notre avis, que cette espèce renferme 16 chromosomes (Pl. 15, fig. 9 à 15). A un stade plus avancé, le fuseau achromatique s'allonge beaucoup et se rétrécit, tandis que les chromosomes diminuent d'épaisseur, s'allongent, prennent des formes de V beaucoup plus accentuées et se réunissent les uns aux autres par leur sommet, donnant des figures du stade diastroïde aussi nettes que celles qui ont été décrites dans les Liliacées. (Pl. 15, fig. 16 et 17). Le fuseau finit par disparaître peu à peu et l'espace qui sépare les deux diasters se vacuolise, ainsi que la partie supérieure de la cellule; de la sorte, toute la cellule prend la structure alvéolaire, sauf au voisinage des diasters où le cytoplasme reste homogène. Le nucléole persiste jusqu'à la formation des deux noyaux fils, après quoi, il diminue de volume et se résorbe.

Dans la suite, les V de chacun des diasters se condensent à leur partie supérieure en une masse confuse, et chaque diaster prend l'aspect d'un disque concave laissant encore apercevoir dans sa concavité quelques fins rayons de chromatine, généralement trois ou quatre, quelquefois réunis les uns aux autres par des travées latérales; les espaces qui séparent ces rayons se remplissent de nucléohyaloplasme (Pl. 15, fig. 18,29 et 30); puis les rayons s'anastomosent par leurs extrémités: ainsi se trouvent formés deux nouveaux noyaux, limités, d'un côté, par une sorte de calotte de

Digitized by Google

chromatine, et, de l'autre, par une fine membrane paraissant formée de l'anastomose de plusieurs rayons dérivés de cette calotte ; les rayons chromatiques sont également réunis les uns aux autres dans leur partie médiane par des anostomoses; bientôt après, on voit apparaître dans chacun des noyaux un nucléole qui paraît dériver de l'épaississement de l'une de ces dernières (Pl. 15, fig. 18). Ces figures de formation des noyaux donnent l'impression que la membrane dérive d'une partie de la chromatine : elle paraît provenir, en effet, dans l'une de ses moitiés, de la calotte chromatique formée par la réunion des sommets des chromosomes en V, et, dans l'autre, de l'anastomose de l'extrémité des branches de ces V : la portion opposée à la calotte reste quelque temps béante, et ce n'est qu'en dernier lieu qu'on voit s'anastomoser les rayons chromatiques. Le mécanisme de cette formation de la membrane est intéressant à signaler.

Le noyau, une fois délimité, prend d'abord un aspect réniforme (Pl. 15, fig. 19), résultant sans doute d'une action plasmolysante momentanée; ce n'est qu'un peu après qu'il s'arrondit ; en même temps, sa chromatine s'organise en un réseau occupant tout le nucléohyoaloplasme, et il prend l'aspect des noyaux normaux, mais, la membrane reste longtemps très épaisse et probablement imprégnée de chromatine.

L'axe de cette première mitose est généralement longitudinal, quelquefois oblique ; celui de la seconde est toujours longitudinal ; celui de la troisième est horizontal ou légèrement oblique. La deuxième et la troisième mitoses diffèrent de la première par le début de la prophase. Tandis que, dans la première, on constate des formations rappelant les protochromosomes, dans ces dernières on observe des stades spirèmes typiques, qui aboutissent à un tronçonnement du peloton chromatique, celui-ci paraissant fournir directement les chromosomes. Les chromosomes ont d'abord la forme de V à branches très allongées ; dans la suite, ils se réduisent en s'épaississant et prennent l'aspect de V ou d'U à ouvertures étroites. La membrane paraît se résorber dès l'apparition du spirème (Pl. 15, fig. 20 à 22). Nous n'avons pas pu suivre d'une manière précise la fin de la prophase et la métaphase ; cependant les quelques figures que nous avons rencontrées de ces stades nous ont paru analogues à celles que nous venons de décrire dans la

Digitized by Google

première division (Pl. 15, fig. 23). Par contre, nous avons obtenu un grand nombre de figures d'anaphase ; ces figures correspondent exactement aux anaphases de la première division et le nombre des chromosomes y peut être également évalué à 16 (Pl. 15, fig. 24 à 28).

Les huit noyaux, une fois formés, sont situés par 4 sur les deux bords latéraux de la cellule ; ils sont entourés d'une petite zone de cytoplasme homogène, tout le reste de la cellule est alvéolaire. L'axe longitudinale de la cellule laisse souvent apercevoir les nucléoles des noyaux précédents, qui subsistent encore quelque temps (Pl. 15, fig. 31).

Chaque noyau est ordinairement réuni, par une sorte de bec très fin, à un petit corps arrondi ou légèrement aplati, très colorable, placé sur l'un des côtés de la surface externe de la zone cytoplasmique qui l'entoure ; ce corps présente tout à fait l'aspect des centrosomes que nous avons décrits dans les espèces précédentes ; il est fort probable qu'il représente un véritable centrosome (Pl. 15, fig. 32). Il est donc à présumer que la délimitation des spores s'effectue, comme dans les cas précédents, aux dépens du kinoplasme, bien que nous n'ayons jamais pu déceler les fibrilles de ce dernier. Un peu plus tard, les petites masses cytoplasmiques, qui entourent les noyaux, s'enveloppent d'une membrane, puis s'allongent et prennent la forme de véritables spores. Une fois adultes, les spores apparaissent formées d'un noyau volumineux, au centre, entouré de cytoplasme homogène ; leurs deux pôles sont occupés par un cytoplasme alvéolaire qui sécrète des corpuscules métachromatiques et des globules d'huile ; ces derniers se fusionnent en deux énormes globules polaires qui compriment le noyau et l'aplatissent (Pl. 15, fig. 33).

CONCLUSIONS

Nous avions observé déjà dans *Aleuria cerea* et *Otidea onotica*, une karyokinèse analogue à celle qu'avait décrite Harper dans plusieurs Ascomycètes, avec fuseau achromatique, d'origine intranucléaire, aboutissant à chaque pôle à un centrosome très net, souvent entouré d'un aster, et persistance de la membrane nucléaire jusqu'à la fin de l'anaphase et du nucléole pendant tout le phéno-

Digitized by Google

même. Les mitoses que nous venons de décrire dans *P. vesiculosa*, *A. marginatus*, *P. Catinus*, présentent les mêmes caractères; toutefois, cette dernière espèce laisse mieux suivre les détails du phénomène que les précédentes. Par tous ces caractères, nos observations sont conformes à celles de Maire et de Dangeard, qui ont paru en même temps que les nôtres.

Au contraire, *P. rutilans*, nous offre une mitose très différente de toutes celles qui ont été rencontrées jusqu'ici chez les Ascomycètes ; cette espèce possède, en effet, un gros noyau typique, qui se divise par un karyokinèse ayant tous les caractères des karyokinèses classiques des Phanérogames et qui est certainement le plus bel exemple de mitose qui ait été jamais observé dans les Champignons. *P. rutilans* offre donc, à ce point de vue, un intérêt considérable.

Pour ce qui concerne le nombre des chromosomes, nous l'avions évalué à huit dans *Aleuria cerea*, et également, mais avec moins de certitude, dans *Otidea onotica :* nous retrouvons ce même nombre de huit dans *P. vesiculosa*. Quant à *P. Catinus*, elle en renferme douze, et *P. rutilans* seize. Maire en observe quatre dans *G. succosa*, et Dangeard en compte aussi quatre dans *Pyronema confluens* et dans plusieurs autres espèces. Il résulte nettement de ces observations, que, contrairement à la généralisation trop hâtive de Dangeard, les Ascomycètes ont un nombre de chromosomes variable suivant l'espèce. De même, on peut trouver chez eux, tout comme chez les végétaux supérieurs, des différences dans la structure du noyau et dans son mode de division. On sait, au contraire, depuis les récentes recherches de Maire, que les Basidiomycètes paraissent avoir le même nombre de chromosomes dans toutes les espèces, et que ce nombre est deux.

Enfin, nous avons constaté très nettement dans *P. vesiculosa* et *P. Catinus*, comme nous l'avions déjà fait dans *A. cerea*, que le kinoplasme joue un rôle prépondérant dans la formation des spores, comme l'avait indiqué Harper; il paraît en être de même dans dans *P. rutilans*, mais nous n'avons pas pu nous en assurer définitivement.

Par suite du petit nombre d'échantillons que nous avons eus à notre disposition, nous n'avons malheureusement pas pu parvenir à suivre complètement, dans *P. rutilans*, les mitoses des filaments producteurs des asques, ni celles des paraphyses; de même il

Digitized by Google

nous a été impossible d'observer dans le détail la métaphase des deuxièmes et les troisièmes mitoses des cellules mères des asques ; cela est regrettable, car nous aurions pu ainsi résoudre le problème de la réduction chromatique des Ascomycètes, soulevé récemment par Maire et Dangeard. Nous espérons, toutefois, retrouver cette curieuse espèce au printemps prochain et poursuivre sur elle de nouvelles recherches, car, plus que toutes les autres, elle nous paraît favorable à cette étude, par la dimension de ses noyaux et par le caractère explicite de ses figures karyokinétiques.

Ce travail a été fait dans le laboratoire de botanique de l'Ecole Normale Supérieure, sous la direction de M. Matruchot, auquel nous adressons l'expression de notre plus vive reconnaissance.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

GJURASIN. — *Ueber die Kerntheilung in den Schlauchen von Peziza vesiculosa* (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1893).

HARPER. — *Beitrage zur Kenntn. der Kernth. und Spor. im Ascus* (Ber. d. Bot. Gossell. Bd. XIII, 1865 pag. 72). — *Kernth. und freie Zell. im Ascus* (Jahr. f. Wiss. Botanik, Bd. XIX pag. 245). — *Divis. in Sporangia and Asci* (Ann. of. Botany, XIII, 1899). — *Sexual Repr. in Pyronema confluens* (Ann. of. Botany, XIV. pag. 395).

GUILLIERMOND. — *Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes* (Annales mycologici — Vol. 1, 1903). — *Nouvelles recherches sur l'épiplasme des Ascomycètes* (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 30 novembre 1903). — *Contribution à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes* (Revue générale de botanique, Tome 16, 15 février 1904).

MAIRE. — *Recherches cytologiques sur Galactinia succosa* (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 9 novembre 1903). — *Recherches sur les Basidiomycètes* (Thèse de doctorat de la Faculté des Sciences de Paris, 1982).

DANGEARD. — *Considérations sur la reproduction sexuelle des Champignons supérieurs* (Le Botaniste, neuvième série, 10 décembre 1903).

DE SINÉTY. — *Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes* (Thèse de la Faculté des Sciences de Paris, 1901).

Digitized by Google

EXPLICATIONS DES PLANCHES

Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire de Zeiss avec l'oculaire compensateur 6 et l'objectif apochromatique à immersion homogène 2 mm apert. 130 de Zeiss.

Planche 14

Fig. 1 à 15. — *Peziza Catinus*. — Flemming, bleu polychrome. — Fig. 1, Noyau à l'état de repos ; 2, Prophase ; 3, 4 et 5, Métaphase ; 6 à 10, Anaphase ; 11, Anaphase de la deuxième division ; le noyau de gauche représente une karyokinèse vue transversalement. — 12, Anaphase. — 13, Quatre noyaux provenant de la deuxième division. — 14, Dernière division, anaphase. — 15, Nouveaux noyaux.

Fig 16 à 21. — *Pustularia vesiculosa* — Flemming, bleu polychrome. — Fig. 16, Prophase. — Fig. 17 à 19, Anaphase. — Fig. 20 et 21, Formation de spores aux dépens du kinoplasme.

Fig. 22 à 36. — *Peziza rutilans*. — Flemming, bleu polychrome. — Fig. 22, Coupe d'une partie du pseudoparenchyme. — 23 à 26, Formation des cellules mères des asques. — 27, Paraphyses, divisions nucléaires. — 28, Cellule mère d'asques, noyau à l'état de repos. — 29, Début de la prophase, protochrosomes (?). — 30 à 36, Prophase et commencement de la métaphase.

Planche 15

Fig. 1 à 33. — *Peziza rutilans*. — Flemming, bleu polychrome. — Fig. 1 à 8, Métaphase. — 9 à 10, Début de l'anaphase. — 11 à 15, Anaphase. — 16 à 18, Diasters. — 19, Formation des deux noyaux fils. — 20. Deuxième division, spirème. — 21 et 22, troisième division, spirème. — 23, Prophase. — 24, Anaphase. — 26 à 29, Diasters. — 30, Formation des noyaux fils. — 31, Cellule mère avec ses huit noyaux. — 32, Formation des spores. — 33, Fragment d'asque mûr, spores avec leur noyau et leurs globules d'huile.

Digitized by Google

INFLUENCE

DE LA

CULTURE EN SERRE

SUR QUELQUES PLANTES DES ENVIRONS DE PARIS

par J. BÉDÉLIAN

(Planches 10 à 13).

INTRODUCTION

On s'est aperçu déjà depuis très longtemps que les plantes sont susceptibles de se modifier suivant les divers endroits dans lesquels elles croissent. Des plantes de la même espèce ont des aspects différents dans les conditions de milieux différents ; ainsi une plante, qui vit sur les hautes montagnes aura une taille très petite, des feuilles presque complètement appliquées à la surface du sol, tandis que les individus de la même espèce, qui se sont développés dans un pays de plaines, auront une taille plus grande, des feuilles insérées tout le long de la tige, etc.

On a observé aussi que les causes multiples peuvent produire des changements considérables chez les végétaux.

Dans un grand nombre de cas on a remarqué que les modifications observées étaient utiles à la plante, qu'elles avaient pour effet de l'adapter aux conditions de milieu : par exemple, dans un milieu sec, l'épiderme a une cuticule très épaisse et cela diminue la transpiration de la plante qui n'a que peu d'eau à sa disposition ; et de même pour diverses autres modifications. Mais avant d'avoir fait des expériences précises on ne pouvait pas savoir nettement

Digitized by Google

jusqu'à quel point les conditions naturelles, chaleur, humidité, etc., peuvent produire des changements de forme extérieure ou de structure interne ; on ne savait pas toujours non plus, quand plusieurs causes modificatrices étaient réunies, quelle était celle qui produisait les changements constatés.

Pour distinguer l'action des diverses causes il a fallu n'en faire agir qu'une seule à la fois. Les travaux de MM. Bonnier (1), Wiesner (2), Stahl (3), Dufour (4), Eberhardt (5) et autres ont déjà rendu des services précieux à la science, en isolant dans une foule de cas l'action de telle ou telle cause modificatrice.

M. Gaston Bonnier a étudié l'influence des milieux cosmiques sur les plantes et il a constaté la grande influence de l'humidité, de l'air et de l'éclairement sur les végétaux. Il dit : « l'influence de l'humidité sur les plantes se traduit par une différenciation moindre de tous les tissus. Le tissu palissadique diminue ou tend à disparaître, les méats intercellulaires ne sont pas si abondants, l'épaisseur de la cuticule diminue ».

Wiesner a cultivé quelques plantes, qui avaient un caractère plus ou moins xérophyle (les plantes qui dans la nature ont leurs feuilles en rosette) dans l'air absolument humide et il a obtenu de grandes différences dans l'aspect des plantes ainsi que dans leur structure. Les feuilles ont pris des dimensions extraordinaires, les feuilles en rosettes se sont écartées par suite de l'accroissement plus fort des entrenœuds (6).

Eberhardt dit :

L'air humide diminue la résistance et la rigidité des plantes ; il augmente la longueur des entrenœuds, mais il tend à diminuer leur

(1) G. Bonnier : *Étude sur la végétation de la vallée de Chamonix* (Revue générale de Botanique, II, p. 513). — *Les plantes arctiques et les plantes alpines* (Revue générale de Botanique, VI, p. 525) — *Cultures expérimentales dans la région méditerranéenne* (C. R. de l'Ac. des Sciences, t. CXXXV, 1902).

(2) J. Wiesner : *Formaenderungen von Pflanzen bei Cultur in absolut feuchtem Raume und in Dunkeln* (Ber. der deutch. bot. Gesel. Bd. IX, pp. 46-53).

(3) Stahl : *Ueber den Einfluss des sonnigen oder schattigen Standortes auf die Ausbildung der Laubblaetter* (Jenaische Zeitsch. f. Naturw. XVI, 1883).

(4) L. Dufour : *Influence de la lumière sur la forme et la structure des feuilles* (An. Sc. Nat., 7e série, 1887, 5).

(5) Ph. Eberhardt : *Influence de l'air sec et de l'air humide sur la forme et sur la structure des végétaux*. Thèse de doctorat. Paris, 1903.

(6) Voir Schimper : *Pflanzengeographie auf der physiologischen Grundlage*, p. 20.

Digitized by Google

nombre ; l'air humide diminue l'épaisseur des feuilles. D'après Schimper (1), dans l'air très humide se produit un prolongement des pétioles, l'épaississement des parois disparaît, les faisceaux et le tissu palissadique subissent une réduction, les méats intercellulaires s'agrandissent. Schimper (2), dans l'ouvrage cité, ayant étudié plusieurs travaux sur l'influence de la lumière sur les plantes, dit :

« La croissance des feuilles en surface gagne son optimum à la lumière très modérée. Quand la lumière devient plus intense, la croissance des feuilles est en retard. La lumière directe du soleil est moins importante pour les plantes que la lumière diffuse. Comme la sécheresse, la lumière intense concourt à la formation des cellules palissadiques. »

Au sujet de l'influence de la chaleur sur les végétaux, Warming (3) s'exprime ainsi :

« L'influence de la chaleur est encore plus grande que celle de la lumière, et exerce une action très importante sur la structure des plantes ».

Ainsi, nous voyons que divers auteurs ont étudié le rôle de différents facteurs cosmiques sur les plantes.

Dans mon travail je ne me suis pas placé à ce point de vue. Mon but a été non pas d'étudier l'effet d'une cause unique, mais de mettre en évidence l'étendue des modifications dues à un ensemble de causes.

Je me suis proposé de comparer, tant au point de vue de la forme extérieure que de la structure anatomique, des plantes qui poussaient, d'une part, en plein air, et, d'autre part, dans une serre.

Les principales différences que l'on peut constater entre les deux milieux où poussent les deux lots comparés sont les suivantes :

Dans la serre : la température est plus uniforme et plus élevée, car c'est depuis le mois de novembre jusqu'au mois de mai que mes expériences ont duré ; l'humidité est beaucoup plus grande, la lumière y est moins intense, plus diffuse et plus uniformément répartie tout autour de la plante ; l'air est moins agité.

(1) Schimper, loc. cit.

(2) Schimper, loc, cit. pp. 64, 68, 70.

(3) Warming : *Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie* (Deutsch von Knoblauch, p. 20).

Digitized by Google

C'est l'ensemble des différences de forme et de structure observées sur les mêmes plantes dans ces deux conditions de milieu qui m'a fourni les résultats qui sont étudiés dans ce travail.

Ce travail a été fait au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne et au Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, où j'ai pu installer mes expériences dans de très bonnes conditions. J'adresse à M. Gaston Bonnier, professeur de la Sorbonne et directeur de ces Laboratoires, et à M. Dufour, directeur-adjoint du Laboratoire de Fontainebleau, mes plus vifs remerciements pour les précieux conseils qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant le cours de mes recherches.

J'adresse aussi mes remerciements à M. Masclef, conservateur des collections botaniques de la Sorbonne, pour l'aide qu'il m'a donnée au sujet de la correction et de l'impression de ce travail.

I. — MORPHOLOGIE EXTERNE

I. — **Bellis perennis** L.

1° *Culture en plein air.*

Un exemplaire moyen de *Bellis perennis* poussé en plein air a de 10 à 15 feuilles disposées en rosette ; les plus extérieures sont étalées sur le sol, celles du centre de la rosette sont dressées plus ou moins obliquement. Presque toutes les feuilles sont de la même taille, de 3^{cm} à 3^{cm}5 de longueur, la moitié de cette longueur correspond aux pétioles. La largeur des limbes n'est pas cependant la même ; les limbes les plus larges atteignent un centimètre et demi de largeur, les autres un centimètre seulement environ ; il y a naturellement des intermédiaires entre ces deux dimensions.

La tige florale ne présente aucune feuille au-dessus de la rosette. Sa hauteur est de 10 à 11 centimètres et le diamètre d'un capitule atteint à peu près 2 centimètres et demi. Cette tige florale est forte, résistante et présente une couleur rougeâtre. La plante est poilue surtout à la face inférieure des feuilles.

Digitized by Google

2° *Culture en serre.*

Des échantillons de *Bellis perennis*, cultivés en serre pendant tout l'hiver et le printemps jusqu'au 11 mai, ont pris un aspect très différent des précédents.

La rosette de la base est formée d'une vingtaine de feuilles ; quelques-unes sont horizontales, mais la plupart sont plus ou moins dressées. La longueur moyenne des pétioles est de 6 à 7 cent. et celle des limbes de 3 à 4 ; la largeur d'une feuille moyenne est de 2 centimètres.

Du centre de la rosette partent de 5 à 6 tiges florales qui sont, à l'inverse de la plante située en plein air, *pourvues de quelques feuilles*, 4 à 5 en général.

Ces tiges sont très élevées; deux d'entre elles ont une longueur de 21 à 23 centimètres, mais elles sont plus minces et plus frêles que les échantillons étudiés plus haut. Les capitules n'ont guère qu'un centimètre et demi de largeur et portent moins de fleurs. La plante est moins poilue.

En résumé, chez la plante cultivée en serre il y a un plus grand nombre de feuilles à la rosette et il existe en outre des feuilles sur les tiges elles-mêmes. Les feuilles sont plus grandes que chez les exemplaires venus dans les conditions ordinaires. Les tiges sont plus longues et plus minces.

2. — Plantago media L.

1° *Culture en plein air.*

Comme dans les plantes précédentes, les échantillons venus en plein air, présentent une rosette de feuilles toutes horizontales; les plus jeunes, disposées au centre, sont plus courtes et recouvrent partiellement les plus âgées, appliquées contre le sol ; ces dernières, les plus grandes, ont environ 6 centimètres de longueur et de 3 à 4 centimètres de largeur ; elles sont rétrécies à la base sans que l'on puisse y distinguer de pétiole. L'ensemble de toutes ces feuilles forme une sorte d'étoile ayant environ 12 centimètres de diamètre.

2° *Culture en serre.*

Les échantillons cultivés en serre pendant un mois seulement

Digitized by Google

ont acquis une forme très différente de la précédente. Les feuilles sont dressées plus ou moins obliquement, les plus jeunes sont même complètement verticales. Les feuilles se rétrécissent graduellement vers leur base en un pétiole très élargi dont la limite avec le limbe ne peut pas être exactement tracée ; on peut cependant dire que la longueur de ce pétiole est approximativement de 3 centimètres alors que la longueur totale de la feuille adulte mesure 15 centimètres.

3. — **Plantago major** L.

1° *Culture en plein air.*

Les feuilles de *Plantago major* sont appliquées sur la surface du sol où elles forment une rosette. La grandeur d'une feuille ne dépasse pas 5 cent. ; le pétiole occupe la troisième partie de la longueur totale d'une feuille (fig. 21, A, pl. 13).

2° *Culture en serre.*

Un pied de *Plantago major* placé pendant un mois dans la serre (au mois d'avril) a pris un aspect qui n'est pas commun chez cette plante (fig. 21, pl. 13, S). Tandis qu'en plein air le *Plantago major*, comme tous les autres Plantains, a des feuilles en rosettes, serrées contre le sol, ou seulement un peu dressées, l'échantillon de la serre est devenu une plante assez élevée, avec des feuilles dressées, aux pétioles très longs.

De la base jusqu'au sommet, la longueur d'une feuille est égale à 22 cent. (20 chez d'autres feuilles). Cette augmentation de la longueur de la feuille est causée par l'allongement très fort de son pétiole. Le pétiole a une longueur de 13 cent., (11 ½ chez d'autres feuilles). La plus grande largeur du limbe de la plus grande feuille est de 7 cent. Le pétiole a des deux côtés des ailes très marquées qui forment un canal sur la face supérieure du pétiole. Les limbes des plus grandes feuilles ne sont pas plats, mais ondulés.

4. — **Erodium cicutarium** L'Hér.

1° *Culture en plein air.*

Un échantillon d'*Erodium cicutarium* qui s'est développé en

Digitized by Google

plein air depuis l'automne, possède, le 10 mai, une très courte tige, de un à deux centimètres seulement, portant des feuilles en rosette. Ces feuilles sont presque complètement appliquées sur le sol, ne se relevant un peu que vers leur sommet. Chacune de ces feuilles a une longueur d'environ 4 centimètres, et c'est sa taille définitive, car la plante porte déjà des fleurs et des fruits. On sait qu'il s'agit d'une feuille composée, qui dans le cas actuel possède de 10 à 12 folioles, très rapprochées les unes des autres et dont chacune présente à peu près une longueur de 7 millimètres 1/2 et une largeur de 5 millimètres. Il n'y a pas à proprement parler de pétiole, car les premières folioles sont tout près de la base de sa feuille.

2° *Culture en serre.*

Des échantillons ont été mis en serre le 17 novembre et y ont passé tout l'hiver et le commencement du printemps. Le 10 mai ces plantes ont un aspect tout à fait différent de celui des exemplaires qui se trouvaient dans les conditions naturelles. Tandis que ces dernières, comme nous l'avons vu, sont des plantes basses avec des feuilles en rosettes serrées à la surface de la terre, les exemplaires de la serre sont des plantes très hautes, à entrenœuds distincts, avec des feuilles dirigées vers le haut. Ainsi un des échantillons atteint une hauteur de vingt-six centimètres.

Sa tige possède quatre entrenœuds, dont les longueurs sont de 5 à 7 centimètres. Les pétioles des feuilles sont bien distinctes et atteignent une longueur moyenne de 6 à 7 centimètres. Les limbes sont longs de 8 à 9 centimètres. Quant aux folioles, leur nombre est le même que chez les échantillons de la campagne, mais elles sont plus espacées le long de la nervure médiane et atteignent jusqu'à 2 centimètres de longueur.

On peut donc dire en résumé que dans la serre la rosette de feuilles s'est dissociée ; les entrenœuds de la tige sont allongés, ainsi que les pétioles et les parties de la nervure médiane, séparant les folioles.

Les différences d'aspects des deux types de plantes sont représentées en A et S (fig. 20, pl. 13).

Digitized by Google

5. — **Capsella Bursa-pastoris** Mœnch.

1° *Culture en plein air.*

Le *Capsella Bursa-pastoris* pris en plein air est de vigueur moyenne. A la base de la tige, on trouve une grande rosette formée d'environ 45 feuilles ; la longueur moyenne d'une de ces feuilles est de 10 centimètres, le limbe comptant pour 7 centimètres et le pétiole pour 3. Ce limbe présente plusieurs échancrures sur ses bords.

Du centre de la rosette partent sept tiges. Ces tiges ont presque toutes la même hauteur, 37 centimètres environ. Remarquons que sur les tiges on trouve souvent insérées au même point trois feuilles qui ont sensiblement la même taille.

2° *Culture en serre.*

Les échantillons cultivés en serre ont atteint une taille, qu'on ne voit jamais chez le *Capsella Bursa-pastoris* dans les conditions ordinaires : il y en a qui ont jusqu'à 45 centimètres. Un exemplaire pris comme type moyen a trois tiges sensiblement égales.

Les feuilles qui sont insérées à la base de la tige ont une longueur moyenne de 7 centimètres sur lesquels 4 centimètres appartiennent au pétiole. Les limbes de ces feuilles présentent de nombreuses échancrures. A partir de dix centimètres de la base de la tige, les feuilles sont sessiles et de moins en moins longues à mesure que l'on se rapproche vers le sommet de la plante. En outre, ces feuilles élevées n'ont plus leurs bords échancrés. Il y a des feuilles jusqu'à une hauteur de 35 centimètres.

A certains niveaux les feuilles sont insérées par trois au même point, mais deux de ces feuilles sont beaucoup plus petites que la troisième, située entre elles.

La longueur des entrenœuds est plus grande dans la serre qu'en plein air ; les plus longs ont jusqu'à 8 centimètres.

Les tiges sont très minces et ont besoin de tuteurs pour rester verticales.

En résumé, nous voyons que dans la serre les entrenœuds sont plus longs, les tiges plus hautes et beaucoup plus frêles ; les feuilles sont moins échancrées, ont des pétioles proportionnellement plus

Digitized by Google

longs et quand il y a trois feuilles au même niveau, les deux latérales sont beaucoup plus petites.

6. — **Achillea Millefolium** L.

1° *Culture en plein air.*

Des exemplaires d'*Achillea Millefolium*, cultivés en plein air, se présentent sous la forme de plantes basses, munies de feuilles qui constituent une petite rosette à la surface du sol.

Donnons quelques détails sur une de ces plantes.

L'exemplaire choisi possède quatre feuilles assez développées ; chacune, longue de 7 à 8 centimètres, a un petit pétiole, puis une quarantaine de folioles alternes, courtes à la base, plus longues à mesure qu'on se rapproche du milieu, puis redevenant plus courtes vers le sommet ; les plus grandes de ces folioles ont à peu près 7 à 8 millimètres de longueur.

2° *Culture en serre.*

Des échantillons cultivés dans une serre pendant tout l'hiver et le printemps, constituent de grandes plantes, dont l'aspect général ne ressemble pas du tout à celui sous lequel on voit habituellement cette espèce.

D'abord le nombre des feuilles est considérable ; il y en a une quarantaine, — dix fois plus que chez les plantes poussées dans les conditions ordinaires. Les feuilles sont très grandes ; les plus longues ont un pétiole de 5 centimètres et une longueur totale de 20 centimètres.

Les distances entre les folioles sont variables. En bas ces folioles sont très serrées, mais plus haut elles sont plus espacées ; la distance qui sépare deux folioles successives est de 1/2 centimètre à 1 centimètre et demi. La longueur des plus grandes folioles, celles qui sont situées vers le milieu de la feuille, atteint un centimètre.

On voit que les différences d'aspect et de végétation entre les feuilles comparées sont les mêmes que chez les plantes précédentes.

L'ensemble des conditions réalisées dans une serre (humidité, chaleur, lumière diffuse), produit une dissociation des rosettes, un allongement des entrenœuds et des pétioles.

Digitized by Google

7. — **Taraxacum Dens leonis** Desf.

1° *Culture en plein air.*

Un exemplaire de *Taraxacum Dens leonis* qui s'est développé en plein air pendant tout l'hiver et au printemps jusqu'au mois de mai possédait à cette époque une quinzaine de feuilles, qui toutes étaient étalées à la surface du sol.

La longueur de la plus grande feuille était de 15 centimètres, en y comprenant le pétiole qui avait 3 centimètres. La largeur du limbe était égale à 1 centimètre et demi. La moitié environ des feuilles présentait cette taille.

2° *Culture en serre.*

L'autre exemplaire de *Taraxacum Dens leonis*, qui, au contraire, pendant le même temps a poussé dans une serre, était plus élancé que le précédent. La différence dans la grandeur des feuilles est très considérable. Suivant leur taille on peut d'abord distinguer les quatre premières, qui ont sensiblement les mêmes dimensions ; leur longueur est d'environ 24 centimètres, en y comptant le pétiole qui en mesure 6 à 7. Chez les feuilles suivantes les dimensions diminuent graduellement au fur et à mesure que l'on se rapproche de centre de la rosette.

En comparant les dimensions des grandes feuilles des deux exemplaires, nous pouvons donner le tableau suivant :

	Plante de plein air	Plante de la serre	Rapport
Nombre des feuilles	15	12	0,8
Longueur du limbe des grandes feuilles.	12	18	1,5
Longueur du pétiole.	3	6 à 7	2 à 2,3
Largeur du limbe	1,5	4	2,6

Digitized by Google

On voit que la longueur des limbes des grandes feuilles est une fois et demie plus considérable dans la serre ; le rapport des longueurs des pétioles est encore plus grand. La chose est encore plus accentuée pour la longueur des limbes.

Tous ces rapports indiquent, très nettement, quelle grande influence sur l'aspect et le développement de la plante ont les conditions dont l'ensemble se trouve réalisé dans la serre.

(A suivre).

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par **M. J. LAURENT** (*Suite*).

Avec une diminution dans la croissance en longueur à mesure que croît la concentration, nous observons en même temps une augmentation notable du diamètre que nous interpréterons plus loin en faisant l'étude anatomique de la plante. Remarquons seulement que contrairement aux observations de Stange, cet épaississement très manifeste avec la glycérine, s'observe aussi dans les solutions de glucose, quoique à un moindre degré et tant qu'on ne dépasse pas une certaine concentration ; il a été obtenu également avec le sel marin et le salpêtre sans avoir recours à des solutions aussi concentrées.

Le tableau suivant indique, en divisions du micromètre oculaire, le diamètre moyen de la base de la tige dans chacune de mes solutions :

Concentration des Solutions	Glycérine	Glucose	NaCl	AzO^3K
Solution Detmer	90	90	90	90
Detmer + solut. isotonique de 0.104 Pm. AzO^3K.	100	100	100	99
— — 0,130 —	»	»	100	110
— — 0,156 —	115	100	105	120
— — 0,208 —	110	100	»	»
— — 0,260 —	120	90	»	»
— — 0,312 —	140	91	»	»

Digitized by Google

La détermination des poids secs permet d'apprécier le degré de concentration qui convient le mieux à la plante, tout au moins au début de la végétation. Les résultats obtenus sont consignés ci-dessous et l'on y a joint la proportion pour cent de matière sèche contenue dans les plantules :

Concentration des Solutions	Cultures avec glucose			Cultures avec glycérine		
	Poids frais moyen d'une plantule	Poids sec	Proportion pour cent de matière sèche	Poids frais moyen d'une plantule	Poids sec	Proportion pour cent de matière sèche
Solution Detmer	0g.860	0g.063	7g.36	0g.860	0g.063	7g 36
Detmer + solut. isoton. de 0,104 Pm. AzO^3K	0,707	0,087	12,36	0,640	0,063	9,88
— — 0,156 —	0,983	0,120	12,20	0,825	0,090	10,90
— — 0,208 —	0.630	0,125	19,84	0.700	0 079	11,27
— — 0,260 —	0,618	0,092	14,88	0,692	0.095	13,71
— — 0,312 —	0,600	0,090	15,00	0,600	0,100	16,66

Ces chiffres présentent, vis-à-vis de la concentration du milieu, des variations qui ne sont pas toutes régulières; le petit nombre de pieds récoltés, 3 ou 4 pour chaque détermination, les explique suffisamment; elles sont dues à des différences individuelles avec lesquelles il faut toujours compter, quelles que soient les précautions prises pour choisir des graines identiques. Quelques lois générales se déduisent cependant du tableau précédent :

1° *Les cultures sur glycérine et sur glucose donnent des poids secs plus élevés que les solutions exclusivement minérales* ; et comme je montre plus loin qu'il y a en même temps digestion plus lente des réserves de la graine, nous avons une preuve nouvelle de l'utilité du glucose et de la glycérine pour la nutrition de la plante. Avec le glucose notamment, la solution isotonique de 0,208 Pm AzO^3K permet de doubler le poids sec comparativement à la liqueur exclusivement minérale.

2° Dans les limites de mes expériences le poids sec croît constamment avec la concentration du milieu dans les solutions de glycérine, avec le glucose il présente un maximum pour les solutions isotoniques de 0,208 Pm. AzO^3K.

Digitized by Google

3° La proportion pour cent de matière sèche croît aussi avec la concentration.

Les résultats précédents deviennent plus intéressants lorsqu'on les compare à ceux que donnent les solutions exclusivement minérales. Je ne connais qu'une expérience de Jumelle (1) donnant des indications sur les variations du poids sec dans les milieux plus ou moins concentrés. Il constate que dans la solution de Knop la proportion pour cent de matière sèche est plus faible que dans l'eau distillée, et il conclut que les sels absorbés par la plante font pénétrer l'eau par osmose dans ses tissus.

Comme les résultats fournis par les solutions de NaCl et de AzO^3K dans les cultures que j'étudie étaient insuffisants à cause de la concentration trop élevée, j'ai repris de nouvelles cultures de Pois et de Maïs avec des solutions plus étendues et j'ai suivi à la fois les variations du poids sec des plantules et celles des cotylédons. Je résume en un tableau les chiffres obtenus avec *Pisum sativum*, les cultures de Maïs fournissant des indications de même nature.

Nature des Solutions	Poids sec moyen d'une plantule	Poids sec des cotylédons	Proportion pour cent de matière sèche dans les plantules
1° AzO^3K			
0,05 Pm. AzO^3K.	0 gr. 097	0 gr. 088	12,25
0,075 —	0,083	0,089	13,59
0,100 —	0,085	0,121	14,50
0,125 —	0,066	0,111	15,94
0,150 —	0,068	0,122	15,83
2° NaCl			
Solutions isotoniques de			
0,05 Pm. AzO^3K.	0,074	0,112	14,88
0,075 —	0.069	0,112	18,10
0,100 —	0,059	0,131	17,92
0,125 —	0,041	0,125	20,24

Nous voyons donc que dans les solutions minérales :

1° Le poids sec diminue à mesure que croît la concentration du

(1) H. Jumelle : *Recherches physiologiques sur le développement des plantes annuelles*. Revue générale de Botanique, tome 1, 1889.

Digitized by Google

milieu. Ce résultat est inverse de celui que l'on obtient avec la glycérine, et pour des solutions isotoniques, l'influence nuisible du sel marin est plus manifeste que celle du salpêtre ; on en peut trouver la raison dans l'utilisation directe par la plante de l'azotate de potassium alors que le chlorure de sodium ne paraît pas servir à sa nutrition.

2° Comme dans les solutions organiques la proportion pour cent de matière sèche augmente avec la concentration. Ce résultat semble en contradiction avec les conclusions de Jumelle, mais les conditions de mes cultures, faites avec des liqueurs beaucoup plus riches en sels, sont sensiblement différentes et il est vraisemblable que la proportion d'eau croît jusqu'à un certain degré de concentration qui reste assez faible pour décroître ensuite.

3° La consommation des réserves contenues dans les cotylédons est d'autant plus active que les liqueurs de culture sont plus étendues. Ici encore les solutions minérales se comportent de la même manière que les solutions organiques et l'on peut dire d'une manière générale que les *liqueurs concentrées gênent l'action des diastases*. Dans les expériences de Brown et Morris (1) relatives à l'influence des sucres sur la germination, à l'action spécifique exercée par les matières sucrées, il faut donc joindre une action osmotique que les résultats précédents mettent en évidence.

Cette conclusion était nécessaire ; elle permet de se rendre un compte plus exact des phénomènes qui s'accomplissent pendant la germination. On sait (2) que l'alcool gêne la fermentation alcoolique et que, en général, l'action des diastases se trouve suspendue par la présence dans le milieu de quantités notables des produits dont elles déterminent la formation. Prenons par exemple une graine de Maïs à albumen amylacé ; à mesure que l'amylase sécrétée par le scutellum détermine la transformation de l'amidon en maltose, ce sucre est utilisé, soit directement, soit après avoir été amené à l'état de glucose, pour la croissance de l'embryon. Si cette croissance est rapide, le maltose est consommé à mesure de sa formation et ne gêne en rien l'action de l'amylase ; si au contraire la croissance est ralentie par une cause quelconque, telle que la concentration

(1) Brown et Morris : *Researches on the Germination of some of the Gram : neæ*. Journal of the Chem. Society, 1890.

(2) Duclaux : *Traité de microbiologie*. Tome II, p. 17.

Digitized by Google

du milieu, le maltose s'accumule en présence de l'amylase et ralentit la digestion ultérieure de l'amidon, de telle sorte que *l'embryon et l'albumen exercent l'un sur l'autre des actions réciproques.* Toute circonstance qui facilite la croissance de l'embryon active en même temps la digestion de l'albumen et toute condition, comme la plus grande surface du scutellum, qui accélère la digestion de l'albumen, rend plus rapide le développement de l'embryon.

On remarquera que j'ai employé pour ces expériences les sels minéraux à la dose de 1 gramme seulement par litre ; je cherchais ainsi à rendre sinon négligeable, du moins aussi faible que possible leur influence osmotique vis-à-vis de celle des substances expérimentées, notamment des substances minérales. Mais à l'égard des matières organiques, un tel mode opératoire présente un inconvénient assez grave que je tiens à signaler ici.

L'élaboration de substance organique vivante par un végétal exige l'intervention de deux catégories d'aliments : d'une part des hydrates de carbone, d'autre part des aliments minéraux ; et pour réaliser les conditions les plus favorables à la végétation, il semble nécessaire de maintenir un certain rapport, inconnu d'ailleurs, entre les poids des divers sels minéraux et le poids d'hydrates de carbone.

Dans les conditions naturelles, la plante elle-même exerce une sorte d'autorégulation qui permet de conserver à ce rapport une valeur voisine de l'optimum ; avec plus de sels minéraux utiles, la fonction chlorophyllienne est activée ; avec plus d'hydrates de carbone, l'absorption des sels est plus rapide. C'est ainsi que Déhérain (1) a pu constater l'absorption considérable de sels minéraux pendant la période de germination, c'est-à-dire de consommation des hydrates de carbone de réserve de la graine et inversement. Krzemieniewski (2) a pu activer la croissance et la respiration des plantules de Radis dont les réserves étaient épuisées en additionnant la liqueur nutritive minérale d'une solution de glucose.

Dans mes expériences réalisées à la lumière, les hydrates de carbone avaient une triple origine : 1° les réserves de la graine ; 2° la solution nutritive ; 3° les produits de la fonction chlorophyl-

(1) P. P. Déhérain et Bréal : *Recherches sur l'influence des matières minérales dans la germination.* Ann. agronomiques, t. IX, p. 58.

(2) *Loc. cit.*

Digitized by Google

lienne ; et il est à craindre que je me sois éloigné assez sensiblement du rapport optimum $\frac{\text{sels minér.}}{\text{hydr. de carb.}}$; de là une restriction à faire au sujet des conclusions relatives à la consommation des réserves de la graine, consommation qui aurait été probablement plus rapide avec plus de sels minéraux.

L'abondance des réserves d'amidon formées dans les cultures sur glucose et sur glycérine suffit à expliquer la proportion élevée de matière sèche obtenue dans mes cultures ; et même en faisant abstraction de l'amidon ainsi immobilisé sous une forme insoluble l'accroissement mis en évidence par les recherches de Stange, de la pression osmotique interne avec la concentration du milieu de culture, nécessite la présence dans le suc cellulaire, de proportions plus fortes de matières dissoutes, élaborées par la cellule dans sa réaction à la concentration du milieu.

L'importance attribuée par de Vries aux acides organiques comme facteurs de la turgescence m'a amené à rechercher la nature des acides organiques contenus dans le suc cellulaire. J'ai opéré sur 21 gr. de plantules de Pois développées sur une solution de glycérine isotonique de 0,25 Pm. AzO^3K.

Les plantules isolées des cotylédons ont été triturées, tige, feuilles et racines dans un mortier avec une petite quantité d'eau distillée, et la bouillie obtenue a été chauffée pendant une demi-heure au bain-marie, puis l'extrait aqueux a été traité par la méthode de Dragendorf telle qu'elle a été indiquée par Aubert (1) en tenant compte des critiques de Berg et Gerber (2) relatives à la présence toujours possible de phosphates et de sulfates dans l'extrait aqueux. Les acides organiques sont précipités par l'acétate de plomb et le précipité bien lavé est mis en suspension dans l'eau et soumis à l'action d'un courant d'hydrogène sulfuré. Après filtration la liqueur claire contient tous les acides organiques : on l'additionne d'un excès d'eau de chaux qui donne un abondant précipité, soluble à la fois dans l'acide acétique étendu et dans le chlorhydrate d'ammoniaque. L'acide oxalique fait donc défaut alors qu'il existe chez *Pisum* de l'acide tartrique.

(1) Ephrem Aubert : *Turgescence et transpiration des plantes grasses*. Ann. des sciences naturelles, 7e série, t. XVI, 1892.

(2) Berg et Gerber : *Sur la recherche des acides organiques dans quelques Mésembryanthémées*. Revue génér. de Botanique. Tome VIII, 1895.

Digitized by Google

Le précipité formé par l'eau de chaux ayant été filtré, la liqueur est portée à l'ébullition ; elle reste limpide ; on l'additionne d'alcool après refroidissement et on obtient un léger précipité de malate de chaux qui charbonne quand on le chauffe sur une lame de platine et fait ensuite effervescence avec les acides.

Ainsi l'analyse nous révèle la présence chez le Pois cultivé sur glycérine d'acide tartrique et d'acide malique et l'absence d'acide oxalique en solution dans le suc cellulaire. Ce dernier résultat est d'autant plus remarquable que je signalerai plus loin des cristaux d'oxalate de calcium dans le péricycle de la racine ; il est donc vraisemblable que l'acide oxalique se trouve neutralisé par les sels de chaux et précipité dès sa formation.

La nature des acides organiques ainsi connue, j'ai opéré sur des plantules cultivées sur des solutions de concentration variable et j'ai fait une analyse sommaire de l'extrait aqueux pour déterminer :

1° La proportion d'acides organiques libres dans le suc cellulaire ;

2° Le poids évalué en glucose des substances capables de réduire la liqueur de Fehling ;

3° Le poids total de matières dissoutes dans l'extrait aqueux, autrement dit le poids total de matières actives osmotiquement.

Une telle analyse n'a pas la prétention de donner des renseignements absolument précis sur la nature des substances formées par la plante dans sa réaction vis-à-vis des milieux concentrés ; elle fournit cependant des indications suffisantes pour apprécier la nature de cette réaction. Tous les résultats exprimés en milligrammes ont été rapportés à 1 gramme du poids frais de la plante.

Nature des Solutions	Acidité exprimée en acide tartrique	Substances réductrices évaluées en glucose	Poids total des substances dissoutes
Liqueur Detmer	1 mgr. 38	traces	41 mgr.
Detmer + 0,15 Pm. Az O^3K. . . .	2,939	traces	61,1
Detmer + Na Cl isotonique de 0,15 Pm. Az O^3K.	1,554	traces	52,40
Detmer + glucose isotonique de 0,15 Pm. Az O^3K.	2,435	13 mgr.	49,1
Detmer + glucose isotonique de 0,25 Pm. Az O^3K.	2,405	15	57,6
Detmer + glycérine isotonique de 0,15 Pm. Az O^3K.	1,852	traces	49,4
Detmer + glycérine isotonique de 0,25 Pm. Az O^3K.	1,736	traces	54,0

Digitized by Google

L'adaptation de la plante aux solutions concentrées se fait donc différemment selon la nature des substances agissantes.

1° L'acidité est plus élevée que dans la liqueur de Detmer ; elle est plus grande dans les solutions de glucose que dans les solutions isotoniques de glycérine et elle atteint rapidement une valeur maximum variable avec la nature de la substance active, sans doute parce que les acides formés sont précipités sous une forme insoluble comme l'acide oxalique, ou entrent en combinaison avec les bases fournies par l'aliment minéral pour donner des sels solubles que nous retrouverons dans l'extrait sec. Berthelot et André (1) ont montré en effet qu'il n'existe « aucune relation entre » la dose totale des acides végétaux contenus dans une plante à » l'état libre ou combiné et le titre acidimétrique des jus ».

Malgré la concordance des chiffres obtenus avec glycérine et glucose, des analyses plus nombreuses seraient nécessaires pour reconnaître si au delà d'une certaine concentration l'acidité décroît réellement, car la différence entre les chiffres trouvés pour les solutions isotoniques de 0,15 et 0,25 Pm. AzO^3K ne dépasse pas la limite des erreurs possibles.

2° Comme je l'ai déjà montré par des cultures en pleine terre, l'utilisation du glucose n'est pas immédiate et on en retrouve de petites quantités à l'intérieur des tissus. En est-il de même pour la glycérine ? C'est ce qu'il est impossible d'affirmer à défaut de réactif pour en déceler de petites quantités.

3° Le poids total des substances dissoutes croît avec la concentration et il est remarquable de constater combien sont voisins les chiffres fournis par le glucose et la glycérine en solutions isotoniques.

Van Rysselberghe (2) avait montré qu'en ce qui concerne les solutions salines, à des excitations isotoniques répondent des réactions isotoniques ; mais ses recherches sur le glucose et le saccharose lui avaient permis de conclure que non seulement les solutions organiques se comportent autrement que les solutions minérales, mais que les courbes des pressions osmotiques ne sont pas identiques pour le saccharose et le glucose.

(1) Berthelot et André : *Remarques sur la formation des acides dans les végétaux*. C. R. de l'Acad. des sciences, 1901.

(2) Van Rysselberghe : *Loc. cit.*

Digitized by Google

Mes recherches confirment la première conclusion ; elles permettent d'ajouter que la glycérine se comporte, elle aussi, autrement que le glucose, car si le poids total des substances actives est sensiblement le même pour des solutions isotoniques des deux matières organiques, la proportion plus faible des acides libres et l'absence de glucose dans les cultures sur glycérine indiquent, de la part de la plante, une réaction osmotique de nature différente. Nous retrouvons donc cette *action spécifique*, déjà signalée plus haut, *de chacune des substances expérimentées*.

Il peut être curieux de rapprocher ces conclusions des résultats obtenus par Delage (1) dans ses recherches sur le rôle des sels minéraux dans le développement parthogénétique des œufs d'Oursins puisqu'il établit que « la nature spécifique du sel a une » importance au moins égale à la pression osmotique de la solu- » tion employée ».

2° *Cultures à l'obscurité.*

J'ai fait remarquer plus haut que les cultures à l'obscurité doivent accuser des différences plus prononcées que les cultures à la lumière entre les plantes développées sur les solutions organiques et celles qui reçoivent exclusivement la nourriture minérale. Les figures 13 à 16 de la planche III mettent ce fait en évidence.

Les graines de Pois ensemencées ont été choisies aussi petites que possible, chacunes d'elles pesant 0 gr. 166 de manière à réduire au minimum l'influence des réserves contenues dans les cotylédons (les difficultés de stérilisation ne permettent guère malheureusement d'opérer sur les espèces à très petites graines) et la figure 13 correspondant à une culture dans la solution normale de Detmer montre un pied étiolé à tige grêle, élancée, à feuilles très-réduites ; la racine est également longue et grêle, à ramifications très-courtes.

Avec 4 pour cent de glucose (fig. 14), la tige est sensiblement plus courte et plus épaisse ; elle possède comme la précédente 5 entrenœuds ; c'est un fait d'ailleurs à peu près général que dans mes cultures de Pois le nombre des entrenœuds développés dans le même temps pour des graines identiques s'est maintenu constant malgré la diversité de composition des solutions nutritives. La

(1) Y. Delage : *Etudes expérimentales sur les Oursins*. Archives de Zoologie expérimentale, 3e série, tome IX, 1901.

Digitized by Google

racine principale est plus épaisse, à ramifications longues et nombreuses dès la base.

Les modifications sont beaucoup plus profondes avec 4 °/₀ de glycérine (fig. 15) ; tige et racine principale sont restées courtes et épaisses, les racines secondaires sont très-peu développées et la comparaison avec la culture sur glucose met bien en évidence l'influence de la pression osmotique car la solution contenant 3 °/₀ de glucose est isotonique de 0,139 Pm. AzO^3K tandis que 4 °/₀ de glycérine équivalent à 0,258 Pm. AzO^3K.

Les cultures à la lumière m'avaient montré que des solutions isotoniques de glucose et de glycérine donnent des plantes comparables par leur aspect extérieur ; ces nouvelles expériences me permettent d'affirmer que des solutions de même concentration en poids donnent des plantes très différentes et dans les recherches relatives à l'action des substances organiques sur les caractères des végétaux, il n'y a guère d'intérêt à opérer sur des solutions renfermant par litre le même poids de ces substances, mais la comparaison doit se faire sur des solutions isotoniques. On peut trouver une nouvelle preuve de cette assertion dans le travail récent de Matruchot et Molliard (1) sur les *Stichococcus* car les solutions de saccharose à 3 °/₀ isotoniques de 0,054 Pm. AzO^3K modifient beaucoup moins la plante que les solutions de glucose à 3 °/₀ lesquelles équivalent osmotiquement à 0,103 Pm. de salpêtre.

Dans les cultures à l'obscurité sur solutions minérales, la plantule emprunte tous ses aliments carbonés aux réserves de la graine et l'absence de lumière modifie d'autant plus son aspect extérieur que ces réserves sont moins abondantes. On pouvait donc espérer obtenir, avec de petites graines développées dans les solutions organiques, des plantules ayant sensiblement les caractères de celles qui sont issues de graines beaucoup plus lourdes, mais ensemencées dans les liqueurs minérales. La comparaison des figures 15 et 16 permet de s'en assurer. La plante de la figure 16 provient d'une graine de Pois volumineuse, pesant 0 gr. 281 et développée sur liqueur Detmer ; elle rappelle dans l'ensemble de ses caractères celle de la figure 15 issue d'une graine plus petite

(1) L. Matruchot et M. Molliard : *Variations d'une algue verte sous l'influence du milieu nutritif*. Rev. gén. de Botanique, tome 13, 1902.

Digitized by Google

(0 gr. 166) mais développée sur glycérine. Ainsi *dans les cultures de Pois à l'obscurité la glycérine absorbée par les racines peut remplir le même rôle que les produits de digestion des réserves de la graine.* Et si l'on remarque que les cultures sur glucose à 4 °/₀ donnent des caractères intermédiaires entre ceux des petites et des grosses graines développées sur solutions minérales, on voit que la même conclusion s'applique au glucose, à la condition d'employer des liqueurs plus concentrées.

J'ai pu répéter la plupart des observations précédentes sur des cultures de Maïs à l'obscurité. Les grosses graines, du poids de 0 gr. 471 ont été placées dans la liqueur Detmer ; après 23 jours de végétation, elles ont donné des pieds très vigoureux dont la tige atteignait avec les feuilles 25 centimètres de hauteur. Les petites graines pesant chacune 0 gr. 247 ont été ensemencées sur les 4 solutions suivantes :

1° Solution normale de Detmer.
2° Detmer + 4 °/₀ de glucose.
3° Detmer + 4 °/₀ de glycérine.
4° Detmer + 2 gr. glucose
1 gr. glycérine
0 gr. 2 asparagine
0 gr. 2 lécithine
} pour 150 cmc. de liquide.

Les 3 dernières sont respectivement isotoniques de 0,137 Pm. AzO^3K pour le glucose, 0,256 Pm. AzO^3K pour la glycérine et 0,095 Pm. AzO^3K pour les substances organiques de la quatrième solution.

Avec la liqueur minérale, les plantes obtenues sont très peu vigoureuses ; le glucose a fourni des tiges plus courtes ; les plantules ne sont pas encore très développées ; la glycérine par contre a donné des pieds à tige épaisse atteignant avec les feuilles 12 centimètres de longueur et rappelant très sensiblement les plantules issues de grosses graines ; enfin la solution 4 qui apportait sous forme organique à la fois le carbone, le phosphore et l'azote a été presque aussi favorable que la glycérine malgré la très faible pression osmotique de la solution employée.

La détermination des poids secs vient confirmer les indications fournies par l'aspect extérieur des plantules. Le poids moyen de l'une d'elles est le suivant :

Digitized by Google

Avec 4 °/₀ de glucose	0 gr. 014
— 4 °/₀ de glycérine	0 gr. 040
— la solution 4	0 gr. 030

En constatant déjà dans mes recherches sur l'augmentation du poids sec avec glucose et saccharose à l'obscurité (1) que les plantes ne tardaient pas à périr malgré l'aliment carboné qui leur était fourni, j'avais pensé que la lumière n'intervient pas seulement chez les plantes vertes dans l'assimilation du carbone, mais qu'elle peut être aussi nécessaire pour l'assimilation de l'azote minéral et du phosphore. L'expérience précédente semble fournir une justification de cette idée ; elle confirme les recherches de Stoklasa (2) sur le rôle de la lécithine dans l'alimentation des plantes et il n'est guère douteux qu'en la reprenant sur certaines espèces avec des solutions plus concentrées, on n'arrive à les conduire sinon jusqu'à la floraison et la maturité des graines, du moins jusqu'à une période très avancée de leur développement.

Comme il arrive pour les solutions minérales concentrées et malgré l'accroissement de poids sec des plantules, la consommation des réserves de la graine est ralentie par la présence des substances organiques. J'ai obtenu en effet pour le poids sec moyen d'un albumen les chiffres suivants :

1° Dans la liqueur Detmer seule . .	0 gr. 153
2° Detmer + 4 °/₀ de glucose . . .	0 gr. 202
3° Detmer + 4 °/₀ de glycérine. . .	0 gr. 182
4° Detmer + glucose, glycérine, etc. .	0 gr. 170

Un second essai de culture de Maïs à l'obscurité m'a donné des résultats identiques aux précédents et après 22 jours de végétation, j'ai trouvé pour le poids sec des albumens :

1° Dans la liqueur Detmer	0 gr. 312
2° Detmer + 4 °/₀ de glucose . . .	0 gr. 331
3° Detmer + 2 °/₀ de peptone . . .	0 gr. 378

chiffres qui confirment les expériences de Brown et Morris et la généralisation que j'en ai donnée pour toutes les solutions concentrées.

(1) J. Laurent : *Absorption des hydrates de carbone par les racines.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, 14 novembre 1898.

(2) Julius Stoklasa : *Assimilation de la lécithine par les plantes.* Acad. des Sciences de Vienne, 1895.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902

Deux faits attirent surtout l'attention dans la période de temps qu'embrasse cette Revue : la découverte des anthérozoïdes des Phanérogames, la découverte de la double fécondation des Angiospermes. Ce sont là les points saillants, mais non les seuls importants. L'anatomie, qui semblait devoir rester stationnaire, sort du cadre trop étroit où on avait voulu l'enfermer. La nature morphologique de la tige, la structure de cet organe sont remises en question. D'autre part, à côté de l'anatomie purement descriptive, se crée une anatomie physiologique ou écologique, cherchant à tenir compte des conditions de vie de la plante. Cette dernière, fondée sur l'observation des relations du végétal avec son habitat, ainsi que sur l'étude expérimentale de l'influence des facteurs du milieu extérieur, mériterait dès maintenant une Revue spéciale.

La cellule.
Les phénomènes intimes de la reproduction.

L'histoire de la cellule, de la cytologie tout au moins, se confond presque durant ces dernières années avec celle des phénomènes intimes de la reproduction. Nous réunissons les deux exposés dans le même chapitre.

Structure du protoplasme. — Strasburger (1) revient sur la distinction qu'il avait faite, de deux catégories de substances plasmiques : *trophoplasme* de rôle nourricier et *kinoplasme* de rôle moteur. La structure du kinoplasme est fibrillaire, celle du trophoplasme est alvéolaire ou fibrillo-alvéolaire. Selon la prédominance de l'une ou l'autre forme, la cellule est de type kinoplasmique (cellules-mères polliniques par exemple) ou de type trophoplasmique (cellules nourricières de l'anthère). Dans ce dernier cas, le kinoplasme ne devient évident qu'au moment de la division nucléaire et se répartit également entre les deux cellules-filles. Les nucléoles constituent une réserve de kinoplasme.

La plaque cellulaire est une formation kinoplasmique. Sur la fin de la caryokinèse apparaissent des fibres achromatiques nombreuses qui

(1) Strasburger : *Ueber Cytoplasmastrukturen, Kern- und Zelltheilung* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

Digitized by Google

donnent naissance à la cloison mitoyenne. Chez les *Spirogyra*, il est vrai, la plaque cellulaire se forme après la disparition de la figure achromatique. Mais ces Algues possèdent des pyrénoïdes, dont la constitution rappelle celle des nucléoles et qui servent sans doute de réserve de kinoplasme.

La membrane périplasmique est également de nature kinoplasmique; elle reste en connection avec le noyau par de fins filaments de kinoplasme. Très nombreux dans les méristèmes, ces filaments semblent manquer aux cellules nutritives; leur présence est peut-être inutile dans ce cas. Strasburger admet aussi des relations de même nature entre les cils vibratiles et le noyau.

Zacharias (1) n'est pas de l'avis de Strasburger. Le protoplasme est formé d'une substance fibreuse et d'un liquide, sorte d'enchyléma.

Nemec (2) a signalé la présence, dans le sommet des racines, de filaments continus, simples et s'étendant d'une extrémité de la cellule à l'autre. Ils serviraient à la transmission de l'irritabilité.

Haberlandt (3) discute ces résultats. Ces filaments sont parcourus de courants protoplasmiques. Ils sont souvent ramifiés. On ne peut dire s'il s'agit de filaments ou de lames plasmiques, si les vacuoles allongées qui les séparent sont isolées ou communiquent entre elles.

M. et P. Bouin (4) ont décrit des filaments particuliers colorables dans le protoplasme des cellules-mères du sac embryonnaire chez les Liliacées. Ces filaments apparaissent aux dépens du réseau cytoplasmique, ils augmentent beaucoup de volume, mais disparaissent finalement avant la prophase de la division. Divers zoologistes ont signalé des productions analogues dans les cellules sécrétrices et dans les cellules germinatives. Garnier leur a donné le nom d'*ergatoplasme*.

Maire (5) a observé des formations semblables dans les basides.

Hottes (6) fait apparaître des filaments dans le sommet des racines de la Fève par la culture à haute température. A basse température, la quantité de kinoplasme semble au contraire diminuer.

Comme particularité de la structure plasmique, citons le cas de *Mortierella*, étudié par Matruchot (7). Ce champignon présente des cordons d'enchyléma granuleux colorable, inclus dans un hyaloplasme

(1) Zacharias : *Ueber Kinoplasma* (Verh. ges. deutsch. Naturf., 1902).

(2) Nemec : *Die Reizleitung und die reizleitenden Strukturen* (Iena, 1901).

(3) Haberlandt : *Ueber fibrillare Plasmastrukturen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 19, 1901).

(4) M. et P. Bouin : *Sur la présence de filaments particuliers colorables dans les cellules-mères du sac embryonnaire des Liliacées* (Bibliogr. Anat., t. 6, 1898).

(5) Maire : C. R. Ac. Sc., t. 132, 1901).

(6) Hottes : cité par Strasburger : *Reduktionstheilung, etc* (Iena, 1900).

(7) Matruchot : *Sur une structure particulière du protoplasme chez une Mucorinée et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques* (Rev. gén. Bot., t. 12, 1900).

Digitized by Google

incolore. L'auteur nomme cette structure *canaliculaire*. Il a obtenu la coloration en cultivant le champignon en compagnie d'organismes chromogènes (Bactéries ou Champignons), méthode nouvelle susceptible d'autres applications. La structure des Mucorinées est généralement alvéolaire; les prétendues vacuoles de ces plantes sont de simples globules d'hyaloplasme subissant la dégénérescence aqueuse et non des organes différenciés.

Quant aux Cyanophycées et aux Bactéries, on discute toujours le point de savoir si le corps central est un noyau, une ébauche de noyau ou une partie du protoplasme, si les corps rouges sont formés de chromatine ou d'une tout autre substance. (Voir pour tout ce qui est particulier aux Cryptogames cellulaires, la Revue des Champignons, la Revue des Algues, etc.).

Communications protoplasmiques. — L'existence de communications protoplasmiques entre les cellules constituant un organisme, est aujourd'hui considérée comme générale chez les plantes vasculaires.

Kuhla (1) déclare, après un examen du Gui et de la Courge, qu'aucun tissu n'est isolé, qu'il existe des communications dans tous les sens.

Gardiner (2) et Hill (3) trouvent des communications entre toutes les cellules, sauf peut-être pour les tissus lignifiés et subérisés.

Strasburger (4) expose longuement la question des unions protoplasmiques. Son mémoire nous servira de plan pour résumer le sujet. L'auteur déclare que les communications intercellulaires n'ont aucun rapport avec les filaments de la division. Les fibres achromatiques disparaissent, ainsi que l'a fait observer autrefois Kienitz-Gerloff, après la mitose. Les unions protoplasmiques sont d'origine secondaire. Ce sont des organes spéciaux de la cellule que l'auteur nomme *plasmodesmes*. Strasburger en donne comme preuve leur existence entre l'épiderme et l'écorce, entre les laticifères et les cellules voisines, tissus d'origine différente et n'ayant pas de mitoses communes. Les plasmodesmes apparaissent néanmoins de très bonne heure : ils sont très nombreux dans les méristèmes (Russow, Kienitz-Gerloff). Ce sont des prolongements de la couche protoplasmique externe traversant la membrane de la cellule.

(1) Kuhla : *Die Plasmaverbindungen bei Viscum album, mit Berüchsichtigung der Siebröhren-systems von Cucurbita Pepo* (Bot. Ztg, t. 58, 1900).

(2) Gardiner : *The histology of the cell wall with special reference to the mode of connexion of cells* (Proc. R. Soc. London, 1897). — *The genesis and development of the wall and connecting threads in the plant cell* (Id. 1900).

(3) Hill : *Distribution and character of connecting threads in the tissus of Pinus silvestris and others allied species* (Proc. R. Soc. London, 1901).

(4) Strasburger : *Ueber Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen* (Jahrb. wiss. Bot., t. 36, 1901).

Digitized by Google

Kohl (1) a distingué deux types de communications : les filaments agrégés situés dans les ponctuations de la membrane et les filaments solitaires traversant la paroi cellulaire en un point quelconque. Dans l'albumen du *Chamaerops excelsa*, les communications des cellules périphériques sont isolées, celles des cellules centrales agrégées. L'albumen du *Phytelephas macrocarpa* présente simultanément dans la même cellule les deux sortes d'unions, mais c'est là une exception.

Gardiner (l. c.) cite les épidermes de *Tamus* et de *Lilium* comme ayant leur paroi externe traversée de fils protoplasmiques. Strasburger considère ces canalicules comme sans rapport avec les plasmodesmes ; ce serait là une structure commune à beaucoup d'épidermes et d'où résulte la striation qu'on y observe.

Baranetzki (1883) et Sauvageau (1888) ont admis l'existence de protoplasme et même de corps chlorophylliens sur la face interne des canaux aérifères de diverses plantes aquatiques (*Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Nuphar* ; *Naias*). Kny (2) a étudié les mêmes espèces et d'autres encore (*Hydrocharis*, *Alisma*, *Hippuris*, *Trapa*, *Limnanthemum*) ; il déclare n'avoir jamais trouvé trace de protoplasme hors des cellules.

Les Desmidiées ont, d'après Hauptfleisch, des pores occupés par des filaments plasmiques se terminant au dehors en bouton et en relation avec les gaines mucilagineuses de ces Algues. Les espèces sans pores n'ont pas de gaine, mais il y a des espèces poreuses sans gaines. Schutt (3) décrit une croissance centrifuge de la membrane due à du protoplasme extra-cellulaire chez des Péridiniens (*Ceratium*, *Podolampas*) et quelques Diatomées (*Cyclotella*). Otto Muller (4) et surtout Karsten (5) nient le fait et pensent que la présence de nombreux pores dans la membrane et ses ornements suffisent à expliquer le mode d'épaississement de ces parois cellulaires.

Les cils des Bactéries, de certaines zoospores d'Algues traversent la membrane et n'apparaissent qu'après le dépôt d'une mince couche de cellulose (très net dans *Vaucheria*, d'après Strasburger).

Strasburger reprend l'étude des tubes libériens avec les ressources de la technique moderne (qu'il expose à la page 496) dans *Pinus silvestris* et une Glycine de Chine, *Kraunhia floribunda*. Les membranes des champs criblés persistent chez les Conifères et les Cryptogames vasculaires ; ces membranes sont traversées de fins canalicules. Le cal

(1) Kohl : *Dimorphismus von Plasmaverbindungen* (Ber. deutch. bot. Ges., t. 18, 1900).

(2) Kny : *Ueber das angebliche Vorkommen lebenden Protoplamas in den weiteren Luftraumen von Wasserpflanzen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 18, 1900).

(3) Schütt : *Centrifugale Dickenwachsthum und extramembranöse Plasma* (Jahrb. wiss. Bot., t. 33. 1899). — *Centrifugale und simultane Membranverdickungen* (Id. t. 35, 1900).

(4) Otto Müller : Ber. deutsch. bot. Ges., 1898 et 1899.

(5) Karsten : Bot. Ztg, 1899.

Digitized by Google

provient d'abord de la transformation des premiers filaments protoplasmiques ; puis le dépôt calleux s'étend autour d'eux de façon à couvrir toute la plaque criblée. Chez les Angiospermes, les membranes des champs criblés disparaissent par dissolution. Les trous ainsi produits sont traversés de gros tractus relativement faciles à mettre en évidence. Il y a ici sûrement fusion des protoplasmes voisins et perte de l'individualité de la cellule. La callose apparaît dans ce cas comme un épaississement du grillage de la membrane, de sorte que la plaque une fois fermée on ne distingue pas le fin tamis des Conifères. L'auteur compare les tubes criblés des Conifères aux trachées et ceux des Angiospermes aux vaisseaux ouverts.

Les communications protoplasmiques servent-elles à la transmission des excitations, comme le pensent Pfeffer (1885) et d'autres ? Le fait reste douteux pour Strasburger, mais par contre il est certain qu'elles servent aux échanges nutritifs. Gardiner et Kohl ont signalé le passage des diastases. Strasburger a remarqué, dans la germination de *Tamus*, que la digestion de la cellulose commence par la dissolution des parois des plasmodesmes. L'étude de la germination de *Phoenix*, l'existence de plasmodesmes dans les assises protéique et amylifères des Graminées le conduisent à la même conclusion. Il y a d'autre part passage de matières protéiques entre les tubes criblés et les rayons médullaires des Abiétinées.

D'après Goebel (1), les cellules nourricières qui entourent les cellules-mères des spores dans les sporanges des Cryptogames vasculaires, se comportent de deux façons différentes. Tantôt les choses se passent comme dans les anthères, les cellules se détruisent et leur contenu s'insinue entre les cellules-mères ou entre les spores pour les nourrir (Fougères, Prêles). Tantôt le tissu nourricier reste en place et diffuse les substances nutritives à travers les membranes (Lycopodes, Sélaginelles, Isoètes).

D'ailleurs le passage par les plasmodesmes n'est pas l'unique moyen de transport. Dans le Gui où les plasmodesmes existent partout, l'embryon ne présente aucune relation de cette nature avec les tissus voisins (Kuhla, l. c.). Dans le Maïs, les réserves passent de l'albumen dans l'embryon sans plasmodesmes (Strasburger).

Hofmeister avait remarqué dans l'archégone des Gymnospermes la présence de corpuscules qu'il nomme « *Keimbläschen* ». Schacht les considérait comme des vacuoles à suc, Strasburger comme des vacuoles protéiques. Goroschankin (1883) fait observer que les cellules endospermiques qui entourent l'oosphère de ces plantes, présentent de gros noyaux et communiquent avec l'archégone par des pores rappelant les plaques criblées : il trouve que les corpuscules ressemblent à des noyaux.

(1) Goebel : *Organographie der Pflanzen* (4me et dernier fasc. paru en 1901, Iena, G. Fischer).

Digitized by Google

Ikeno (1), pour le *Cycas*, déclare que le contenu des cellules enveloppantes passe tout entier, protoplasme et noyau compris, dans l'oosphère. Les noyaux se modifient et deviennent homogènes, ils traversent la membrane pour servir à la nutrition de l'œuf et de l'embryon.

Arnoldi (2) prétend avoir observé tous les stades du passage des noyaux de l'assise enveloppante dans l'archégone chez *Pinus Peuce* et *P. montana*. Les noyaux se remplissent d'une substance finement granuleuse comparable au métaplasme de Strasburger et acquièrent de nombreux nucléoles. Ils deviennent amiboïdes en s'insinuant dans les pores de la membrane et la cellule demeure vide. Chez *Danmara australis*, les choses se passeraient autrement : les corpuscules seraient ici, non des noyaux, mais des substances élaborées par les noyaux des cellules d'enveloppe et celui de l'oosphère. C'est ce que pensent Hirase (1895) pour le *Ginkgo* et Miss Ferguson (3) pour *Pinus Strobus*. C'est ce qu'avait admis Arnoldi (4) pour *Cephalotaxus* ; mais il arrive maintenant à la conclusion que chez toutes les Abiétinées les corpuscules sont des noyaux.

Murrill (5) n'a pu constater le départ des noyaux dans *Tsuga canadensis*, une Abiétinée.

Strasburger déclare de son côté qu'en fixant les matériaux, avec l'alcool et non avec le liquide de Flemming, il n'a jamais vu les noyaux abandonner l'assise enveloppante chez plusieurs Abiétinées. Pour lui les corpuscules de Hofmeister ne sont pas des noyaux, mais des vacuoles de nature albuminoïde. Ils existent alors même que l'assise de revêtement montre des noyaux très évidents. Cette assise élabore des substances nutritives qui passent dans le protoplasme de l'archégone pour être utilisés dans la formation de l'embryon.

Kienitz-Gerloff (1895) pense que les vaisseaux, le sclérenchyme, le liège, les feuilles avant leur chute, se débarrassent de leur contenu et notamment de leurs noyaux à travers les pores de leur membrane. Strasburger nie ces faits. Les noyaux des feuilles ne « déménagent » pas de cellule en cellule. Les feuilles tombées des arbres présentent encore des plasmodesmes. La dessiccation même les laisse subsister. La désorganisation s'opère sur place.

(1) Ikéno : *Untersuchungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgan und den Vorgang der Befruchtung bei Cycas revoluta* (Jahrb. wiss. Bot., t. 32, 1898).

(2) Arnoldi : *Beitrage zur Morphologie der Gymnospermen*. IV. *Was sind die Keimblaschen oder Hofmeister's Körperchen in der Eizelle der Abietineen* (Flora, t. 87, 1900).

(3) Miss Ferguson : *The development of the egg and fertilization in Pinus Strobus* (Ann. of Bot., t. 15, 1901).

(4) Arnoldi : *Beitr., etc.* III. *Embryogenie von Cephalotaxus Fortunei* (Flora, t. 87, 1900).

(5) Murrill : *The development of the archegonium and fertilization in the Hemlock Spruce (Tsuga canadensis)* (Ann. of Bot., t. 14, 1900).

Digitized by Google

MIEHE (1) a observé, dans l'épiderme foliaire de l'*Allium* et d'autres Monocotylédones que le noyau peut se glisser par les pores ; aussi voit-on des cellules binucléées à côté de cellules sans noyau. KOERNICKE (2) cite quelques cas analogues.

Le protoplasme contracté par la plasmolyse reste uni aux parois cellulaires par de nombreux filaments (Pringsheim, 1854). Ces filaments sont adhérents avec une mince couche ectoplasmique restée appliquée contre la membrane cellulaire, la *membrane périplasmique*, que TSWETT (3) considère comme un organe distinct et nettement différencié, tandis que CHODAT et BOUBIER (4) y voient une simple coagulation de la surface du protoplasme. Strasburger admet cette adhérence, mais seulement aux places dépourvues de plasmodesmes. Quant aux plasmodesmes, ils sont indépendants de ces tractus. La plasmolyse les rompt et ils sont incapables de se régénérer, même lorsque le protoplasme vient s'appliquer de nouveau contre la membrane.

Les tissus soudés *(greffes, parasites)* s'unissent par des plasmodesmes. Il est difficile, une fois la soudure des tissus opérée, de savoir avec certitude où se trouve le point de contact du greffon et du sujet. Dans un seul cas, Vöchting a pu constater des unions protoplasmiques entre les deux (tissu dur de la tige sur tissu mou de la racine chez *Beta*). Strasburger a examiné un nombre considérable de greffes. En déterminant à l'avance à la loupe la zone d'union, il a pu constater que toutes les cellules présentaient des plasmodesmes. Le mode d'union des protoplasmes étrangers, dans la greffe, est le même que celui des protoplasmes d'un même être. L'union est donc très intime. Il se forme autour des parties soudées des couches communes de tissus, notamment de bois, comme s'il s'agissait d'un être unique *(Abies, Picea)*. Néanmoins les tissus conservent leurs caractères respectifs. Aussi Strasburger pense-t-il que dans tous les plasmodesmes, il y a, non pas continuité du protoplasme, mais simple contact des protoplasmes voisins au niveau de la lamelle moyenne.

A plus forte raison en est-il ainsi dans les unions entre un parasite et son hôte. Kuhla, Kienitz-Gerloff ont signalé des plasmodesmes entre le Gui et son hôte. Pour la Cuscute, l'union est différente : le suçoir du parasite digère les tissus de la plante hospitalière et va accoler l'extrémité de ses cordons trachéens et libériens perpendiculairement aux parois des tissus conducteurs de cette dernière (Peirce, Strasburger). Peirce a vu des communications ouvertes entre les tubes criblés des

(1) Miehe : *Ueber Wanderungen des pflanzliches Zellkerns* (Flora, t. 88, 1901).

(2) Koernicke : *Ueber Ortveränderungen in Zellkern* (Sitzungsber. Niederrhein. Ges. Natur-und Heilkunde, Bonn, 1901).

(3) Tswett : *Sur la membrane périplasmique* (Journ. de Bot., t. 13, 1899).

(4) Chodat et Boubier : *Sur la membrane périplasmique* (Journ. de Bot., t. 13, 1899).

Digitized by Google

deux êtres ; Kienitz-Gerloff a observé la formation de cal des deux côtés des plaques criblées communes.

Sans entrer dans le détail des recherches d'Arthur Meyer, de Strasburger et autres sur les organismes inférieurs, disons cependant que KIENITZ-GERLOFF (1), après une étude des Mousses, des Algues, des Champignons et des Lichens, pense que les communications intercellulaires sont tout aussi répandues chez les Cryptogames que chez les plantes vasculaires. Mais les Algues filamenteuses font exception ; dans aucun cas, on n'a pu en mettre en évidence d'une façon certaine. La cellule de ces plantes conserve donc une grande indépendance.

KOHL (2) n'est pas du même avis : les *Volvox* et le *Chaetopeltis* sont les seules Algues où l'existence d'unions soit hors de contestation. L'auteur figure de nombreux plasmodesmes dans des prothalles de Fougères. Il confirme leur existence entre les cellules épidermiques et les cellules stomatiques du Gui, dont il avait parlé antérieurement (3).

Noyau au repos. — HOF (4) déduit de ses recherches sur le sommet végétatif des racines de Fougères, d'*Ephedra major*, de Fève, que le filament nucléaire est formé, non de disques alternants de linine et de chromatine, mais d'un filament de linine contenant des disques de chromatine, ainsi que l'a décrit Rosen (1896).

Dans le sac embryonnaire de *Leucoium* et *Fritillaria*, Van WISSELINGH (5) voit le réseau du noyau au repos constitué de petits amas et de granules, unis par de fines fibrilles. Le stade du peloton consiste en l'union des masses et des granulations en filament ; les fines unions qui existaient entr'eux, se contractent ou disparaissent. Les stries transversales que l'on aperçoit, sont dues à ce que les petites masses sont plates et reliées par de fins tractus.

MOLISCH (6) décrit trois nouvelles formes de noyaux découvertes dans le latex ou le mucilage des plantes supérieures : des noyaux vésiculeux (latex des *Musa*, des Aroïdées, du Houblon) paraissant enfermés dans de larges vacuoles contenant aussi des cristaux de nature organique, protéique probablement ; des noyaux filamenteux (mucilage des feuilles de plusieurs Amaryllidées, telles que *Lycoris*) constituant des filaments extraordinairement allongés (12 à 1500 μ), non ramifiés et dont la largeur

(1) Kienitz-Gerloff : *Neue Studien über Plasmodesmen* (Ber. deutsch. Bot. Ges., t. 20. 1902).

(2) Kohl : *Beiträge zur Kentniss der Plasmaverbindungen in den Pflanzen* (Beih. Bot. Centralbl., t. 12, 1902).

(3) Kohl : Bot. Centralbl., t. 72, 1897.

(4) Hof : *Histologische Studien an Vegetationpunkten* (Bot. Centralbl., t. 76, 1898).

(5) Van Wisselingh : *Ueber das Kerngerüst. 2e Beitrag zur Kentniss der Karyokinese* (Bot. Ztg, 1899).

(6) Molisch : *Ueber Zellkerne besonderer Art* (Bot. Ztg, 1899).

Digitized by Google

varie en raison inverse (16 à 0, 1 μ); des noyaux géants (plusieurs Aloès) atteignant 50 à 80 μ sur 20 à 45.

Longo (1) signale, dans les bractées et les préfeuilles de *Cynomorium coccineum*, une structure dégénérée du noyau, semblable à l'état dit pycnose par les zoologistes. (Voir aussi d'Arbaumont à propos de l'amidon).

Noyau et membrane cellulaire. — Townsend (2) a constaté chez de nombreuses plantes (Algues, *Chara*, Mousses, Monocotylédones, Dicotylédones) que le noyau est nécessaire à la formation de la membrane cellulaire. Une masse plasmique peut s'entourer d'une membrane à la condition qu'elle soit reliée par des filets cytoplasmiques à un noyau. Le simple contact du protoplasme et du noyau ne suffit pas pour que la membrane se produise, il faut qu'il y ait continuité. Dans le tube pollinique, le noyau reproducteur est capable aussi bien que le noyau végétatif de donner naissance à une membrane.

Selon Buscalioni (3), chez plusieurs Légumineuses, les cellules encore nues du suspenseur de l'embryon envoient dans la masse non cloisonnée de l'albumen des prolongements plasmiques plus ou moins rameux, qui peuvent perdre toute connection avec la cellule-mère et se fragmenter. L'auteur les appelle des *pseudo-cellules*. Celles-ci s'entourent d'une membrane, même quand elles ne contiennent pas de noyau, mais la membrane ne s'épaissit que si la pseudo-cellule a été primitivement nucléée. L'existence de ces éléments est éphémère.

Gerassimof (4) montre que l'accroissement de la cellule et le développement de la chlorophylle sont étroitement liés à l'existence du noyau chez *Spirogyra*. Il a précédemment obtenu des cellules sans noyau sous l'action du froid ou d'autres agents provoquant des perturbations telles que le noyau abandonne plus ou moins le centre de la cellule et que les cloisonnements deviennent irréguliers. Dans les cellules sans noyau, la paroi cellulaire demeure mince et forme parfois des excroissances ; les rubans chlorophylliens perdent peu à peu leur coloration verte ; la turgescence d'abord considérable diminue plus tard et la cellule meurt. Dans les chambres sans noyau communiquant par un orifice avec une cellule nucléée, la croissance est énergique et de longue durée, la chlorophylle s'accumule au centre. Enfin dans les cellules contenant un excès de substance nucléaire (2 noyaux, 1 noyau composé,

(1) Longo : *Contributioni alla cromatolizi nei nuclei vegetabili* (Ann. R. Soc. bot. Roma, t. 9, 1899).

(2) Townsend : *Der Einfluss des Zellkerns auf die Bildung der Zellhaut* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(3) Buscalioni : *Osservationi e ricerche sulla cellula vegetale* (Ann. R. Soc. bot. Roma, t. 8, 1898).

(4) Gerassimof : *Ueber den Einfluss des Kerns auf das Wachsthum der Zelle* (Bull. Soc. Imp. Natur. Moscou, 1901). — *Die Abhängigkeit der Grösse der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse* (Zeitschr. f. allg. Physiol., 1902).

Digitized by Google

1 noyau à gros nucléole ou à plusieurs nucléoles), la croissance en largeur est exagérée autour du noyau, d'où la forme en tonnelet de la cellule ; les rubans chlorophylliens prennent un développement remarquable au voisinage du noyau ; le cytoplasme est très abondant autour de ce dernier. Les cellules à excédent de substance nucléaire sont capables de se conjuguer soit entr'elles, soit avec des cellules ordinaires, de jouer le rôle mâle ou femelle ; les zygotes sont volumineux. (Voir aussi : membrane cellulaire).

(*A suivre*). H. Ricôme.

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

OBSERVATIONS

SUR LA GERMINATION ET LA FORMATION

DE LA

PREMIÈRE RACINE DE QUELQUES PALMIERS

par M. C.-L. GATIN

I

La germination des Palmiers a fait depuis longtemps l'objet de nombreux travaux qui nous ont renseignés sur les phénomènes morphologiques qui accompagnent cette période de la vie de ces plantes.

Martius (1) remarqua que certains Palmiers, comme le Dattier, germent en allongeant plus ou moins leur pétiole cotylédonnaire, ce qui a pour effet d'enterrer la jeune plante, tandis que chez d'autres espèces la plantule se développe tout contre la graine. Il distingua ces deux modes de germination et leur donna, au premier le nom de *germinatio remotiva*, au second celui de *germinatio admotiva*.

Karsten (2), en 1856, au cours d'un travail dans lequel il se préoccupait surtout de rechercher comment le système radiculaire des palmiers se développe pour créer à l'arbre adulte un point d'appui suffisamment résistant fit des remarques analogues.

Bien plus tard, en 1885, Pfitzer (3) publia un travail plus complet sur la question. Il étudia surtout comment l'embryon se fait jour au travers de l'enveloppe dure ou fibreuse de la graine et la forme des premières feuilles. Il adopta, au point de vue du

(1) Martius : *Hist. Nat. Palmarum* (Munich 1823-1850).

(2) Karsten : *Ueber die Bewürzelüng der Palmen* (Linnœa. Halle 1856.)

(3) Pfitzer : *Ueber Früchte Keimüng ünd Jügendzüständе einiger Palmen* Berichte d. d. Bot. Ges. 1885).

Digitized by Google

mode de germination, la distinction en deux groupes qu'avait faite Martius, et donna dans chacun d'eux une liste d'espèces plus complète.

Bien que les travaux dont il vient d'être parlé révèlent tout l'intérêt que pourrait présenter l'étude anatomique des divers phénomènes qui se produisent au cours de la germination des Palmiers et en particulier celle de la formation de la première racine, ce sujet d'études ne semble pas avoir, jusqu'ici, tenté de nombreux observateurs.

De Mirbel (1) a étudié la racine du Dattier en partant de l'embryon mais il s'est surtout préoccupé d'observer de quelle manière se forment les éléments adultes aux dépens du cambium, qu'il considérait alors comme une matière amorphe, source de toute organisation.

En 1878 M. Flahault (2), au cours d'un travail qui vérifiait et étendait aux racines embryonnaires les résultats obtenus par MM. Treub (3) et Eriksson (4) pour les racines adultes, eut l'occasion de parler de la formation de la première racine chez les Palmiers. Ses observations se rapportent aux genres *Cocos*, *Phœnix*, *Sabal*, *Trachycarpus*, qui tous germent suivant le mode *remotiva*.

J'ai pensé qu'en étudiant avec les ressources que nous offre la technique moderne des espèces germant suivant ces divers modes, qui non seulement au point de vue morphologique, mais encore au point de vue anatomique (5), nous révèlent de nombreuses variations, j'arriverais à donner une description et une interprétation plus complètes des phénomènes qui accompagnent la formation de la première racine chez les Palmiers.

Je crois possible de donner, dès aujourd'hui, les premiers résultats auxquels m'a conduit jusqu'ici cette étude.

(1) De Mirbel : *Nouvelles notes sur le cambium, extraites d'un travail sur l'anat. de la rac. de Dattier* (Mém. de l'Acad., 29 avril 1830).

(2) Flahault : *Recherch. sur l'accroissem. terminal de la Racine des Phanérogames* (Ann. des Sc. Nat. 1878. 6e série, Bot. T. 6, P. 39-41.)

(3) Treub : *Le Méristème primitif de la Racine dans les Monocotylédones* (Leyde 1876).

(4) Eriksson : *Ueber dar Urmeristem der Dikotylen Wurzeln* (Pringsheims. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XI. Heft 3 1877).

(5) C.-L. Gatin : *Sur les phenomenes morphologiques de la germination et sur la structure de la plantule chez les Palmiers* (C. R. Acad. des Sc. Paris, CXXXVIII, 29 Fév. 1904, P. 594-596).

Digitized by Google

II

Comme premier exemple, je décrirai l'*Archontophœnix Alexandræ* W. et Dr., qui germe suivant le mode *admotiva*.

Son embryon (fig. 19 et 20) a la forme d'un cône à arètes peu inclinées sur la base. Le cotylédon en occupe, comme chez tous les palmiers, la plus grande partie. Il est formé de cellules orientées en files dans la partie axiale, mais assez irrégulières sur les bords et surtout vers la base.

La plantule est courbe ; la radicule se trouve dans l'axe du cône embryonnaire, et dirigée vers la base ; son axe fait avec celui de la gemmule un angle de 90° degrés environ.

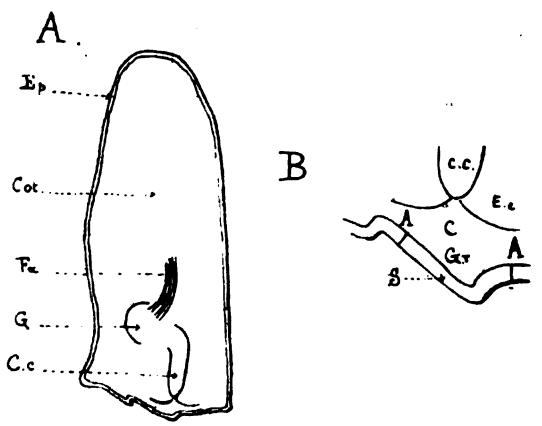


Fig. 19 et 20. — Embryon de l'*Archontophœnix Alexandræ* W. et Dr. A, l'ensemble ; B, extrémité radiculaire grossie ; *Ep*. épiderme du cotylédon ; *Cot*., cotylédon ; *Fv*., faisceaux du cotylédon ; *G*. gemmule ; *Cc*. cylindre central ; *Ec*., écorce ; Gr., gaine radiculaire.

Le cotylédon est parcouru par des faisceaux encore très peu différenciés qui vont se recourber à la base de la gemmule et il est recouvert par un épiderme très régulier.

Vis-à-vis de la pointe de la radicule, cet épiderme se trouve en continuité avec une assise (S.) de cellules peu régulières et présentant, dans la région la plus axiale, des cloisonnements tangentiels avec un épaississement plus marqué des parois. Je suppose que c'est là la trace du suspenseur.

La radicule comprend un cylindre central (C.c.) bien visible grâce à l'allongement des éléments qui le composent ; de chaque côté de sa pointe se trouve une région (E.c.) formée de cellules extrêmement petites (leur épaisseur est inférieure à 5μ), en voie de

Digitized by Google

différenciation. Cette région constitue la future écorce, non encore limitée intérieurement par un endoderme et passant sans transition anatomique brusque aux régions voisines. A l'extrémité du cylindre central se trouve une région (C.) formée d'éléments orientés régulièrement en séries radiales et présentant des cloisonnements tangentiels. Ces séries se continuent avec celles que forment les cellules de la région plus externe (G.r.), cellules qui sont assez régulièrement orientées dans le sens radial et forment en outre des files recourbées sous la pointe de la radicule, et comprimées aux points A., A. et sont tout à fait semblables par leur forme et leur mode d'orientation aux cellules des parties voisines du cotylédon, avec lesquelles elles sont en continuité. On passe sans transition brusque de la région Gr à la région C.

Au moment de la germination, l'extrémité radiculaire de l'embryon apparaît à l'extérieur de la graine et s'y renfle en une petite masse lenticulaire présentant en son centre une petite saillie.

Une coupe pratiquée dans cet ensemble montre que cette saillie est produite par le développement de la radicule dont l'écorce, non encore limitée par une assise pilifère, se distingue nettement par l'orientation de ses éléments. La région C devient la coiffe grâce à des cloisonnements tangentiels repétés ; la région Gr, formée seulement de quelques assises de cellules (quatre ou cinq), ne se cloisonne pas, elle s'étire seulement sous l'influence de la pression interne, en formant à la racine, avec l'assise S, une gaîne radiculaire.

La croissance d'ensemble du cotylédon à l'extérieur de la graine est terminée, mais à ce moment il est loin d'avoir digéré tout l'albumen qui se trouve dans la graine, et ce travail de digestion, accompagné d'une augmentation de volume qui amène le cotylédon à remplir toute la graine, se poursuit pendant que radicule et gemmule continuent à s'allonger.

La croissance de la gemmule, qui se redresse verticalement, a pour effet d'amener la partie du cotylédon qui l'entoure à proliférer encore pendant quelque temps, en lui formant une ligule qui est bientôt percée mécaniquement par le bourgeon terminal.

Pendant ce temps, la radicule s'est allongée et est devenue la première racine. La gaîne radiculaire s'est enfoliée, de même que la partie la plus externe de la coiffe, qui continue à fonctionner,

Digitized by Google

de sorte que les tissus de la jeune racine se trouvent directement en contact avec le milieu extérieur.

L'assise pilifère apparaît alors, d'abord dans les parties voisines de la base du cône radiculaire ; puis elle s'allonge peu à peu et, à mesure que la racine croît, elle se différencie de plus en plus près du point végétatif. La racine prend alors les caractères connus (1).

Vers la base de la racine, l'assise pilifère se trouve en contiguité avec une file de cellules cotylédonnaires distante de deux à quatre épaisseurs de cellules de l'épiderme du cotylédon. (Fig. 21).

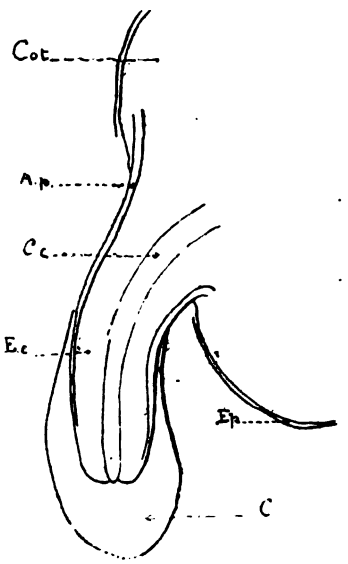


Fig. 21. — Formation de la racine chez l'*Archontophœnix Alexandræ* W. et Dr. *Cot.*, cotylédon ; *Ep.*, son épiderme ; *Ap.*, assise pilifère ; *Cc.*, cylindre central ; *Ec.*, écorce ; *C.*, coiffe.

Si maintenant, partant de la partie libre de la racine et allant vers le cotylédon on en considère les différentes régions, on constate que le cylindre central de la racine se continue à l'intérieur du cotylédon par un tissu vasculaire semblable qui est en relations avec le tissu vasculaire du bourgeon. L'écorce présente des éléments de moins en moins allongés, qui deviennent bientôt semblables aux éléments du cotylédon.

Cette transformation commence par les files de cellules les plus voisines de la périphérie de la racine. Quand la germination devient plus âgée il semble que l'écorce s'allonge légèrement dans l'intérieur du tissu cotylédonnaire aux dépens de celui-ci. Ses éléments se sclérifient de même que ceux de l'écorce de la partie libre de la racine et des racines adventives.

Celles-ci naissent sur le tissu vasculaire, entre le point de sortie de la première racine et le bourgeon.

(1) Treub. *loc. cit.* (p. 29 ; pl. 14).

Digitized by Google

Leur écorce et même leur assise pilifère conservent leur individualité à une très grande profondeur dans l'intérieur du tissu cotylédonnaire.

Il en naît souvent de deux à trois dans le voisinage du point de sortie de la première racine qui sont semblables à celle-ci, sauf en ce qui concerne la persistance de l'individualité de leurs éléments. D'autre part une autre d'un diamètre beaucoup plus grand (environ double) naît toujours dans le prolongement de l'axe du bourgeon terminal (fig. 22 et 23) et semble susceptible de jouer, au moins pendant quelque temps (1), le rôle d'une racine principale. J'ai remarqué le même fait chez l'*Archontophœnix Cunninghamiana* W. et Dr., qui présente d'ailleurs, au point de vue qui nous occupe, des caractères analogues à ceux de l'*A. Alexandræ*.

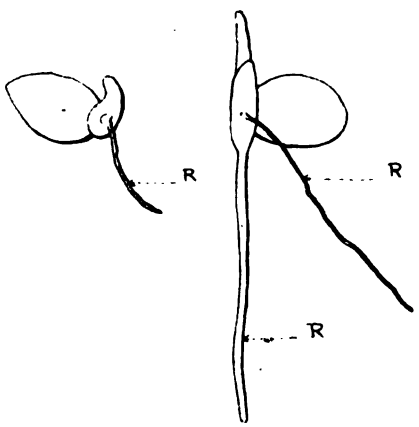


Fig. 22 et 23. — Deux états successifs de la germination de l'*Archontophœnix Cunninghamiana* W. et Dr. (grandeur naturelle). *R.*, première racine ; *R.*, racine adventive jouant le rôle de racine principale.

Dans le but d'effectuer une étude semblable à celle qui vient d'être faite pour l'*Archontophœnix Alexandræ*, je prendrai comme sujet une espèce germant suivant le mode *remotiva*, par exemple le *Phœnix canariensis* Hort.

L'embryon d'une graine non mûre (fig. 24) se compose d'un cotylédon cylindrique recouvrant la gemmule comme une cloche (Cot.), et formant la plus grande partie de la masse de l'embryon. Ses éléments se distinguent par leur section longitudinale rectangulaire et par leur orientation en files, dont certaines, à éléments plus allongés que les autres, constituent les futurs faisceaux du cotylédon. Ceux-ci (Fx.), très rapprochés de la surface au sommet

(1) Observations faites sur des graines semées en serre à 27° après 120 jours de germination environ, les jeunes plantes ayant développé leur 3e feuille.

Digitized by Google

du cotylédon, pénètrent obliquement dans son intérieur, puis se recourbent à la base de la gemmule et s'y atténuent.

La radicule se compose d'un cône de cellules (C.c.), dont les périphériques présentent un allongement plus marqué. Ce cône est le futur cylindre central. Vers sa pointe, et s'étendant de part et d'autre, se trouve une zone (E.c.) de cellules petites et en voie de cloisonnement.

Cette région est séparée de l'extérieur par des files de cellules recourbées autour de la pointe de la radicule. Les plus internes (C) se cloisonnent dans le sens de la longueur des files, tandis que les deux ou trois assises les plus externes (Gr) ne subissent pas de cloisonnements semblables. Les zones C et Gr ont des éléments semblables à ceux du cotylédon et en contiguité avec lui. Le cotylédon est recouvert d'un épiderme continu se raccordant vis-à-vis de la pointe de la radicule avec une courte région S formée de cellules plus basses et moins régulières que les autres auxquelles confine extérieurement une seconde rangée de cellules provenant vraisemblablement du suspenseur.

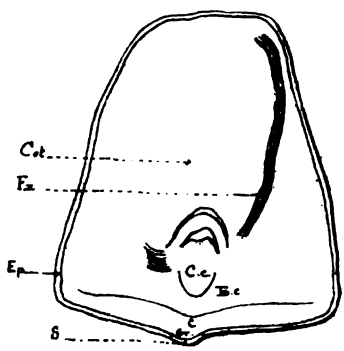


Fig. 24. — Embryon non mûr de *Phœnix canariensis* Huart. (Même légende que pour les fig. 19 et 20).

Dans l'embryon mûr, le cylindre central s'est légèrement allongé ; la région Ec continuant à se cloisonner, ses éléments ont atteint la taille de ceux de la région C, où de nombreux cloisonnements tangentiels ont continué à se produire.

Aucune assise de cellules ne sépare nettement la région Ec de la région C, mais l'orientation différente des éléments qui composent ces deux régions permet, ainsi que leur développement ultérieur, de considérer la région Ec comme l'écorce, alors que la région C constitue la coiffe.

La zone Gr ne présente pas de cloisonnements, elle s'étire sous l'influence de la pression venue de l'intérieur et contribue, avec l'assise S, à former à la jeune radicule une gaîne radiculaire.

Si l'on fait germer la graine, on observe que le cotylédon se

Digitized by Google

différencie en un pétiole qui s'allonge de 5 à 6 cm. en enterrant la jeune plante qu'il entoure d'une gaîne et en un limbe transformé en suçoir qui commence à digérer l'albumen à l'intérieur de la graine. Au moment où l'allongement du pétiole est terminé, le limbe est encore très petit, il continue encore à digérer l'albumen jusqu'au moment où apparaît a seconde feuille.

Pendant ce temps, la radicule continue à s'allonger. L'écorce se distingue de plus en plus nettement de la coiffe. En étudiant avec soin la disposition des éléments qui les composent on arrive à tracer entre les deux régions une ligne de démarcation (fig. 25).

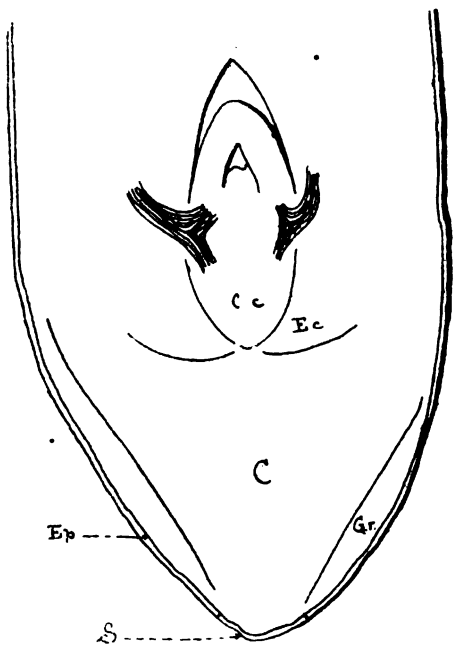


Fig. 25. — Extrémité d'un embryon germant de *Phœnix canariensis* Hrt. (Même légende que pour les fig. 19 et 20).

La gaîne radiculaire commence à s'exfolier.

La croissance externe du cotylédon étant terminée, gemmule et radicule continuent seules à s'accroître.

La gemmule s'accroît à l'intérieur de la gaîne cotylédonnaire, qui s'allonge de plus en plus aux dépens du pétiole et se tapisse intérieurement d'une sorte d'épiderme formé de petites cellules aplaties très régulières, à section rectangulaire et à parois non épaissies.

A un moment donné, le bourgeon terminal perce mécaniquement cette gaîne, qui ne continue pas à proliférer et ne l'entoure pas d'une ligule.

Pendant ce temps, la racine s'allonge, en exfoliant normalement sa coiffe. Elle reste très longtemps sans posséder d'assise pilifère

Digitized by Google

caractérisée. Celle-ci apparaît un peu plus tard, d'abord assez loin du point végétatif, dont elle se rapproche ensuite peu à peu.

A ce moment, l'épiderme de la gaîne cotylédonnaire, de même que l'assise de cellules prolongeant l'assise pilifère vers la base de la racine, se sont exfoliées et les régions sous-épidermiques se sont sclérifiées. L'écorce de la racine passe à la gaîne cotylédonnaire sans autre changement anatomique notable qu'une augmentation de diamètre.

La surface de transition de la racine au cotylédon porte la trace d'exfoliations nombreuses et irrégulières.

Des racines adventives se forment toujours au niveau de cette transition mais la première racine reste ici la principale (1).

Nous venons de voir que, chez le *Phœnix canariensis,* l'assise pilifère de la racine apparaît très tardivement. Il en est de même chez le *Phœnix dactylifera* L., qui en est d'ailleurs très voisin et dont la germination n'offre rien de bien différent de celle du *Phœnix canariensis.*

D'autres espèces germant suivant le mode *remotiva*, présentent au contraire une apparition bien plus hâtive de l'asssise pilifère, sans que jamais, cependant, celle-ci apparaisse avant que la croissance externe du cotylédon soit terminée.

Chez le *Jubœa spectabilis* H. Bonpl. et le *Sabal umbraculifera* Mart, l'assise pilifère s'étend jusqu'à la base du cône radiculaire où elle se trouve en contiguité avec des files de cellules cotylédonnaires distantes de deux ou trois épaisseurs de cellules de l'épiderme du cotylédon.

Ces deux espèces, de même qu'un certain nombre d'autres, présentent encore cette particularité, déjà signalée (2), que leur plantule étant courbe dans l'embryon, le bourgeon terminal s'allonge suivant un axe différent de celui de la racine et du cotylédon. Aussi, dans ce cas la gaîne cotylédonnaire ne s'allonge-t-elle pas jusqu'à pouvoir, comme chez le *Phœnix canariensis*, contenir un bourgeon terminal pouvant acquérir jusqu'à 2 cm. de longueur.

Ici, le bourgeon se fait jour latéralement à travers la gaîne cotylédonnaire qui lui forme une ligule.

(1) Observations faites sur des plantes commençant à développer leur 4e feuille après 150 jours de germination dans une serre à 27°.

(2) C.-L. Gatin : *loc. cit.*

Digitized by Google

Enfin, chez toutes les germinations *remotiva* que j'ai eu l'occasion d'observer, lorsqu'il se forme des racines adventives au niveau du passage de la racine au cotylédon, celles-ci se développent toujours beaucoup moins que la première racine, qui, au moins pendant les premiers âges, reste la principale.

III

Des observations qui viennent d'être rapportées il résulte que des Palmiers germant suivant les modes les plus éloignés présentent au contraire, dans la structure de leurs embryons, dans la formation de leur première racine et même dans les phénomènes morphologiques de leur germination, un certain nombre de caractères constants.

1° La plantule peut être droite ou courbe, plus ou moins différenciée à l'époque de la maturité de la graine, qu'il s'agisse d'ailleurs d'embryons d'espèces différentes ou d'une même espèce. Elle possède une radicule toujours composée : d'un cylindre central et d'une écorce distinctes, mais non délimités avec précision par un endoderme et une assise pilifère ; d'une coiffe qui est en relations étroites avec la gaîne radiculaire dont elle constitue la partie la plus interne, ces deux organes étant toujours en continuité avec le tissu du cotylédon.

2° L'assise pilifère apparaît toujours tardivement, et toujours lorsque la croissance extérieure du cotylédon est terminée. Il en résulte que l'on peut considérer deux phases dans la germination des Palmiers :

a) Une *phase de préparation*, pendant laquelle la plantule en voie de différenciation est portée dans le milieu dans lequel elle doit se développer.

b) Une *phase de développement* qui est en somme la germination proprement dite.

Au sujet de cette conclusion à laquelle me conduisent des recherches purement anatomiques, il est intéressant de rappeler que Karsten, au cours de son travail sur l'enracinement des Palmiers (1), considère cet allongement exagéré du pétiole cotylé-

(1) Karsten. *Loc. cit.*

Digitized by Google

donnaire chez certaines espèces, comme une adaptation qui permet à la jeune plante de trouver au-dessous de la surface du sol desséché par un climat chaud, un milieu plus favorable à son développement et à son enracinement. Il remarque qu'au contraire les germinations délicates des Palmiers de la forêt, c'est-à-dire vivant en milieu humide, se développent à la surface du sol et que la nature a pourvu d'une autre manière à la solidité de leur enracinement.

Des deux phases que je distinguais tout à l'heure la première serait donc bien véritablement une phase de préparation dont la durée et l'importance mesureraient, par leurs variations, le degré d'adaptation de la plante.

3° Il y a production de racines adventives à la base du cône radiculaire. Dans certains types *admotiva*, l'une de ces racines, située dans le prolongement de l'axe de la gemmule, peut jouer le rôle de la racine principale, au moins pendant les premiers mois de la vie de la plante.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par M. J. LAURENT (*Suite*).

Chapitre II

MODIFICATIONS DE STRUCTURE ANATOMIQUE PROVOQUÉES PAR LES MATIÈRES ORGANIQUES

Les différences constatées dans l'aspect extérieur des plantes cultivées sur glycérine ou glucose vis-à-vis des mêmes espèces développées sur des liqueurs exclusivement minérales laissaient entrevoir dans la structure anatomique des modifications appréciables.

Les comparaisons ont été faites sur des coupes transversales pratiquées soit à la base de la racine, soit dans la portion moyenne du premier entrenœud de la tige, de manière à porter sur des régions ayant rigoureusement le même âge, et j'ai utilisé non seulement les cultures décrites dans le chapitre précédent, mais encore des pieds de Pois et de Lentilles obtenus dans des essais antérieurs. J'étudierai donc successivement la structure de la racine et de la tige :

1° Sur les plantules de Pois développées à la lumière en solutions isotoniques ;

2° Chez des Lentilles cultivées également à la lumière sur glucose, saccharose et glycérine ;

3° Chez le Pois et le Maïs en cultures à l'obscurité.

Et comme deux plantes issues de graines semblables, cultivées

Digitized by Google

dans le même milieu, ne présentent jamais de structures rigoureusement identiques, je prendrai pour mes descriptions les échantillons qui se rapprochent le plus de la structure moyenne obtenue sur telle ou telle solution nutritive. Dans la plupart des cas, avec des solutions suffisamment concentrées, les modifications provoquées par les matières organiques sont d'ailleurs assez prononcées pour qu'on ne puisse pas confondre les coupes provenant de plantes cultivées sur des milieux différents, et ces types de structure ont été obtenus dans plusieurs cultures successives pratiquées dans des conditions différentes de température et d'éclairement, et avec des graines d'origines diverses.

1° *Cultures de Pois en solutions isotoniques.*

Structure de la racine.

1° *Liqueur Detmer* (*Pl. IV, fig. 17*). — Rappelons d'abord la structure normale de la racine telle qu'on l'observe après un mois de culture dans la liqueur minérale de Detmer employée à la dose d'un gramme de sels par litre.

Tout d'abord le diamètre total de la base de la racine exprimé en divisions du micromètre oculaire est de 92, celui du cylindre central étant compris entre 25 et 37. Sur une coupe transversale pratiquée à ce niveau, l'assise pilifère est tombée ; le parenchyme cortical comprend 15 assises de cellules à section à peu près circulaire, et dont la plus externe à lignifié ses parois ; l'endoderme a ses éléments très légèrement allongés dans le sens radial. Dans le cylindre central on reconnaît facilement les 3 faisceaux de bois primaire formés de vaisseaux à parois épaisses et bien lignifiées qui s'avancent jusqu'au voisinage du centre de la racine, ne laissant ainsi qu'une moelle très réduite ; alternant avec le bois primaire se trouvent 3 faisceaux libériens dont chacun renferme dans sa zone externe un paquet de fibres de sclérenchyme qui laisse en dehors de lui quelques éléments libériens comprimés contre le péricycle.

La zone génératrice libéroligneuse est continue, ayant déjà formé un bois secondaire assez épais qui se compose de gros vaisseaux à parois épaisses et lignifiées et de fibres dont les parois sont également épaissies, mais les lames intercellulaires seules se colorent par le vert d'iode ; enfin une à deux assises d'éléments

Digitized by Google

conjonctifs, à membranes minces et cellulosiques, bordent de chaque côté les faisceaux primaires, les isolant ainsi des éléments du bois secondaire. Le péricycle en dehors de la portion médiane des faisceaux libériens ne comprend qu'une seule assise de cellules dont quelques-unes renferment des cristaux d'oxalate de calcium ; il s'est cloisonné au contraire en regard des faisceaux ligneux.

2° *Liqueur Detmer et glucose* (*Pl. IV*, *fig. 21*). — Comme on pouvait le prévoir, les solutions les plus concentrées déterminent les modifications les plus profondes ; je décrirai donc la structure obtenue dans les liqueurs isotoniques de 0,312 Pm. AzO^3K.

Le diamètre total de la base de la racine est sensiblement réduit, 75 au lieu de 92, celui du cylindre central varie selon les directions entre 25 et 27. Le parenchyme cortical comprend comme dans le cas précédent 13 à 15 couches de cellules dont les plus externes ont lignifié leurs parois et sur un certain nombre de coupes se sont allongées dans le sens radial. Les éléments du bois primaire ne se rejoignent pas au centre ; ils ont des parois sensiblement plus épaisses que dans la liqueur minérale ; une zone génératrice continue contourne les faisceaux primaires en dehors desquels du bois secondaire s'est déjà formé ; dans tout l'ensemble du bois secondaire, on remarque non seulement des vaisseaux de diamètre plus faible que dans la liqueur Detmer, mais un très grand nombre de fibres à parois très épaisses dont les lames intercellulaires sont seules bien lignifiées. Cette *sclérose intense* atteint aussi les éléments de la moelle et donne aux coupes leur caractère distinctif. Il ne reste d'éléments à parois minces et cellulosiques qu'une file de cellules intercalées le long des faisceaux primaires, entre eux et le bois secondaire.

On remarque également l'épaisseur considérable des parois cellulaires dans le sclérenchyme libérien, où la cavité des cellules apparaît sur les coupes sous la forme d'une fente étroite. En dehors de ce sclérenchyme, les éléments libériens sont complètement écrasés contre le péricycle. Ce dernier est double et renferme toujours des cristaux nombreux d'oxalate de calcium ; mais ils ne sont plus localisés exclusivement en face du liber et on peut en observer çà et là en regard des faisceaux primaires.

Avec la solution isotonique de 0,26 Pm. AzO^3K, les caractères sont assez peu différents ; la sclérose est presque aussi prononcée ;

Digitized by Google

on constate encore l'énorme épaisseur des parois des vaisseaux et du sclérenchyme, mais à mesure que diminue la concentration, la structure se rapproche de plus en plus de celle qu'on observe dans la solution minérale.

3° *Liqueur Detmer et glycérine* (*Pl. V, fig. 20*). — Avec les solutions isotoniques de 0,312 Pm. AzO^3K, le diamètre de la base de la racine atteint 255, et si l'augmentation porte surtout sur l'épaisseur de l'écorce, le cylindre central s'est lui-même notablement dilaté ; 122 au lieu de 92, soit environ 1/3 de sa valeur.

Le parenchyme cortical comprend 14 à 17 assises de cellules dont les plus externes ont lignifié leur membrane ; toutes sont énormes, allongées dans le sens radial, caractère qui se retrouve à la fois dans l'endoderme et le péricycle.

A l'intérieur du cylindre central, les faisceaux de bois primaire sont séparés par une large moelle dans laquelle se différencient quelques vaisseaux à parois déjà lignifiées; les vaisseaux primaires les plus étroits et les plus externes sont écrasés entre les éléments du péricycle qui ont pris un énorme développement ; la zone génératrice libéro-ligneuse n'est pas continue ; elle ne comprend encore que 3 arcs générateurs intralibériens ; le bois secondaire déjà très-épais est formé de vaisseaux disposés en files radiales ; leurs parois sont moins épaisses que dans la liqueur Detmer ou les solutions de glucose ; les fibres ligneuses font à peu près défaut.

Dans le liber, les tubes criblés sont très larges ; l'épaisseur des membranes dans le sclérenchyme, est bien moins accusée que dans les deux exemples précédents. Enfin le péricycle extra-libérien est en voie de cloisonnement, comprenant sur la coupe que j'ai figurée 5 assises cellulaires ; leur nombre est d'ailleurs variable d'un échantillon à l'autre.

En résumé nous observons donc, avec une lignification sensiblement moins accusée, une augmentation énorme du diamètre de la racine due à une double cause : 1° *la dilatation de tous les éléments* et principalement de ceux du parenchyme cortical ; 2° *le cloisonnement du péricycle* (1).

Là encore, comme dans le cas du glucose, les modifications de structure sont d'autant moins apparentes que les solutions de

(1) J'ai obtenu avec la glycérine des modifications de structure encore plus profondes, dont je réserve l'étude pour un travail ultérieur.

Digitized by Google

glycérine sont plus étendues. Avec les liqueurs isotoniques de 0,260 et 0,208 Pm. AzO^3K, on retrouve le cloisonnement du péricycle non plus sur tous, mais sur la plupart des échantillons ; on ne l'observe plus que sur un petit nombre d'individus avec la solution isotonique de 0,156 Pm. AzO^3K et il a disparu entièrement avec la liqueur la moins concentrée.

Déjà sur d'autres cultures de Pois réalisées à la lumière du 30 juin au 19 juillet 1900 sur des solutions contenant, avec la liqueur Detmer normale 4 pour cent de glycérine, malgré la faible durée de la végétation j'avais constaté le même phénomène sur quelques individus, de sorte que ce caractère apparaît lorsqu'on réalise les deux conditions suivantes : 1° solutions de glycérine suffisamment concentrées ; 2° durée assez longue de végétation.

4° *Liqueur Detmer et sel marin* (*Pl. IV, fig. 18*). — Les deux caractères fondamentaux des cultures sur glycérine se retrouvent avec les solutions de chlorure de sodium isotoniques de 0,156 Pm. AzO^3K. Le diamètre moyen de la base de la racine atteint 100 et cet accroissement en épaisseur par rapport aux cultures témoins porte à la fois sur l'écorce et le cylindre central. Le péricycle est cloisonné et la figure 18, empruntée à une coupe où le phénomène est moins avancé que sur la plupart des autres échantillons, montre bien comment il apparaît ; il se manifeste d'abord d'une façon normale en dehors des faisceaux de bois primaire et il progresse ensuite de chaque côté, s'étendant peu à peu en dehors des faisceaux libériens.

Comme dans les cultures sur glycérine, l'assise génératrice n'est pas continue, à cause sans doute du développement considérable du péricycle en dehors du bois primaire.

5° *Liqueur Detmer et salpêtre* (*Pl. IV, fig. 19*). — Avec la solution renfermant 0,15 Pm. AzO^3K, on observe encore une carnosité très apparente de l'écorce ; dans le cylindre central les faisceaux de bois primaire laissent au centre une large moelle ; les éléments du bois secondaire sont encore assez peu nombreux ; par contre les arcs générateurs et le liber présentent une épaisseur plus considérable que sur tout autre milieu de culture. Le péricycle comprend en dehors du liber deux assises de cellules allongées dans le sens radial ; il est en voie de cloisonnement sur certains échantillons ; l'endoderme développe radialement ses éléments.

Digitized by Google

A part quelques différences de détail qui ne viendraient pas modifier mes conclusions générales, je pourrais retrouver dans la tige les principales modifications anatomiques qui viennent d'être signalées à propos de la racine ; la seule différence importante se rapporte à l'accroissement plus manifeste du diamètre de la base de la tige dans les solutions concentrées ; le tableau que j'ai donné antérieurement à ce sujet et les figures des planches II et III montrent en effet qu'il peut être observé aussi bien avec le glucose qu'avec les autres substances expérimentées. Comme j'étudierai plus loin les modifications de structure de la tige de Pois dans les cultures à l'obscurité, je crois inutile d'y insister ici.

2° *Cultures de Lentilles à la lumière.*

Comme les précédentes, ces cultures ont été réalisées sur pierre ponce arrosée avec la liqueur nutritive ; les graines ont été ensemencées le 9 septembre 1899 et les plantules récoltées le 19 octobre après 41 jours de végétation. J'ai employé comme milieux liquides d'une part la liqueur Detmer normale, d'autre part la même liqueur additionnée de proportions variables de glucose, de saccharose et de glycérine. Là encore les liqueurs les plus concentrées m'ont seules fourni des modifications de structure appréciables et j'insisterai uniquement sur les résultats qu'elles ont donnés.

1° *Structure normale avec liqueur Detmer* (*Pl. VII, fig. 34*). — Sur les coupes transversales pratiquées dans la portion moyenne du premier entrenœud de la tige qui présente encore quelques caractères de la zone de passage entre la tige et la racine, l'épaisseur de l'écorce en divisions du micromètre oculaire varie de 65 à 90 ; le cylindre central a une section elliptique ; son plus grand diamètre atteint 105 et le plus petit 90. On compte 4 faisceaux de bois primaire dont les deux latéraux situés aux extrémités du petit axe sont presque réunis au centre par des vaisseaux en voie de différenciation dans la moelle ; les 2 faisceaux antérieur et postérieur sont isolés au contraire par un arc de parenchyme. La zone génératrice est continue comprenant 6 à 7 assises cellulaires et dans le bois secondaire tous les éléments sont épaissis et lignifiés. Dans la portion externe de chaque faisceau de liber se trouve un arc de sclérenchyme à parois épaisses incomplètement lignifiées et en contact

Digitized by Google

avec le péricycle qui ne comprend qu'une seule assise de cellules.

2° *Liqueur Detmer et glucose 5 °/₀ (Pl. VII, fig. 33).* — Les dimensions transversales de la tige ne sont guère modifiées : 62 à 70 pour l'épaisseur de l'écorce et 115 à 130 pour le cylindre central qui seul est sensiblement dilaté ; aussi on constate immédiatement que le bois secondaire est plus épais ; les fibres ligneuses sont plus nombreuses, plus différenciées, à parois plus épaisses ; les mêmes caractères beaucoup plus accentués se retrouvent dans le sclérenchyme libérien où la cavité des cellules est excessivement réduite. La zone génératrice est encore continue, comprenant comme dans le cas précédent 6 à 7 assises cellulaires. Ajoutons enfin que des cultures sur saccharose à la dose de 2 gr. 050 pour 35 cmc. de liquide ont donné des modifications du même ordre : épaississement des membranes et lignification un peu plus intenses qu'avec la solution minérale, mais moins prononcés que dans la solution de glucose. Malgré la durée assez longue des cultures les plantules n'avaient pris d'ailleurs qu'un assez faible développement et la liqueur ne renfermait, à la fin de l'expérience, que 0 gr. 056 de sucre interverti.

3° *Liqueur Detmer et glycérine 5 0/0 (Pl. VII, fig. 32).* Tout autres sont les caractères anatomiques dans les cultures de glycérine ; la tige est plus épaisse, mesurant 70 à 102 pour l'écorce, 80 à 130 pour le cylindre central. Les 4 faisceaux de bois primaire sont composés seulement de quelques vaisseaux et comme on se trouve encore dans la zone de passage de la racine à la tige, il vient s'y ajouter quelques éléments différenciés dans la moelle. La zone génératrice n'est pas encore continue ; on observe seulement 4 arcs générateurs ; encore les deux latéraux sont-ils seuls bien apparents; le sclérenchyme libérien commence à peine à épaissir ses parois qui ne sont pas encore lignifiées. Tous les éléments, aussi bien dans l'écorce que dans le cylindre central, sont fortement dilatés.

Dans quelques échantillons les formations secondaires sont un peu plus avancées et la zone génératrice à peu près continue, mais toujours la différenciation des tissus est moins avancée que dans la liqueur Detmer.

Sans qu'il soit nécessaire d'indiquer en détail les différences de structure dans la racine, on peut dire qu'elles sont du même ordre que les précédentes, se traduisant encore par une lignifica-

Digitized by Google

tion plus avancée avec glucose, un retard un peu moins prononcé cependant que pour la tige dans la différenciation avec la glycérine.

J'ai étudié la répartition des réserves d'amidon dans toutes les cultures précédentes ; avec la glycérine et aussi bien dans la racine que dans la tige, l'amidon est abondant dans la plupart des tissus ; l'épiderme, les fibres du sclérenchyme libérien et les vaisseaux du bois sont à peu près les seuls éléments qui en soient dépourvus. Dans les solutions de glucose, on le retrouve également, quoique un peu moins abondant ; mais il fait entièrement défaut dans les tissus des plantes développées sur la solution minérale.

3° *Cultures de Pois à l'obscurité.*

L'aspect extérieur des plantules de Pois développées à l'obscurité sur glucose ou mieux encore sur glycérine rappelle de très près, comme je l'ai montré plus haut, celui des plantules issues de graines plus volumineuses. Examinons principalement les modifications de structure de la base de la tige.

La comparaison des figures 22 à 25 de la planche VI montre d'abord que le diamètre moyen du premier entrenœud varie avec le milieu de culture ; il est maximum avec 4 pour cent de glycérine (fig. 22) et sa valeur exprimée en divisions du micromètre oculaire atteint 160 ; elle s'abaisse à 122 pour les plantules provenant de grosses graines (fig. 25), 112 sur une solution renfermant 4 pour cent de glucose (fig. 23) et enfin 110 avec la liqueur minérale seule (fig. 24). Ces variations du diamètre total se retrouvent dans le cylindre central qui atteint 41 sur glycérine, 31 sur glucose, 28 dans la solution Detmer et 33 pour les grosses graines.

Le nombre des assises du parenchyme cortical est à peu près constant ou ne présente que des variations insignifiantes ; on en compte 15 en moyenne, parfois 16 sur glycérine, aussi le diamètre des cellules présente des différences que l'on peut suivre sur les figures 26 à 29 représentant au même grossissement une partie du parenchyme cortical traversée par un faisceau foliaire. Les coupes longitudinales indiquent en même temps que la longueur des cellules diminue légèrement quand croît leur diamètre ; c'est ainsi qu'on peut compter dans le champ du microscope 35 cellules dans

Digitized by Google

la portion moyenne du parenchyme cortical sur 4 pour cent de glucose alors qu'on en observe 42 avec 4 pour cent de glycérine.

Ces résultats sont absolument généraux pour toutes mes cultures de Pois et de Lentilles, qu'elles aient été réalisées à la lumière ou à l'obscurité. J'ai déjà résumé en un tableau les chiffres fournis par les cultures de Pois en solutions isotoniques ; dans d'autres cultures de Pois effectuées à la lumière, du 30 juin au 19 juillet 1900, j'ai obtenu pour les dimensions transversales du deuxième entre-nœud de la tige les chiffres ci-dessous dont chacun résulte de mesures prises sur 5 à 6 échantillons.

MILIEUX DE CULTURE	Diamètre total			Diamètre du cylindre central		
	moyen	maximum	minimum	moyen	maximum	minimum
Sur solution Detmer.	78,1	91	66,5	32,2	37	26,5
Detmer + glucose 5 °/₀ . . .	88,3	96,5	80	36,8	42,5	30,5
Detmer + glycérine 4 °/₀ . .	97,7	112 5	87,5	40,5	47,5	35

On observe ainsi, plus nettement sur la tige que sur la racine, un accroissement de diamètre avec la pression osmotique du milieu de culture, aussi bien sur glucose que sur glycérine et sans que se trouve modifié le nombre des assises cellulaires de l'écorce.

Et comme on sait par les recherches de Stange qu'avec la glycérine la turgescence des cellules augmente constamment avec la concentration de la liqueur nutritive, comme d'autre part avec le glucose et le saccharose cette même turgescence finit par atteindre d'après Van Rysselberghe et pour une concentration variable d'une espèce à l'autre un maximum qui n'est pas dépassé, lorsqu'on fait croître le nombre des molécules dissoutes, nous pouvons formuler les deux conclusions suivantes :

1° *Dans la tige comme dans la racine, les solutions concentrées ne modifient pas le mode de cloisonnement des initiales de l'écorce ;*

2° *L'augmentation de la turgescence diminue la croissance longitudinale et active la croissance transversale de la cellule qui se rapproche de plus en plus de la forme sphérique.*

Digitized by Google

Si nous mettons à part ces différences dans le diamètre des éléments, nous pourrons constater que les modifications de structure dans le cylindre central ne sont pas bien considérables, on peut signaler simplement une lignification un peu plus avancée dans le sclérenchyme libérien et dans le bois secondaire des cultures sur glucose, un développement plus avancé du bois sur glycérine (fig. 30 et 31). Les différences sont plus accentuées dans la racine qui présente à sa base et sur la solution de glucose une assise génératrice continue au lieu d'arcs générateurs et des faisceaux de bois primaire se touchant au centre au lieu de laisser une moelle plus ou moins large.

Ces faibles modifications sont dues vraisemblablement à la trop courte durée (22 jours) des cultures, les plantes développées dans la solution minérale trouvant une alimentation carbonée suffisamment abondante dans les réserves de la graine.

Mais par contre il importe de signaler l'extrême abondance de l'amidon localisé à la fois dans le parenchyme cortical, l'endoderme, le liber, le parenchyme ligneux, jusque dans la moelle dans les cultures sur glycérine et sur glucose. Dans les cultures sur solutions minérales et même avec les grosses graines, l'amidon fait au contraire à peu près défaut ; je n'ai pu en observer qu'en très petite quantité dans l'endoderme de la tige, notamment celui qui entoure les faisceaux foliaires.

Sans doute, il est très admissible que l'emploi de solutions concentrées ait pu déterminer la précipitation et la mise en réserve d'une petite portion des hydrates de carbone solubilisés dans la graine, mais on peut penser également que la majeure partie de cet amidon provient directement de la solution primitive, puisque toutes mes expériences indiquent un ralentissement provoqué par les solutions concentrées dans la digestion des réserves de la graine.

Si l'on remarque que j'ai pu faire les mêmes observations dans les cultures à la lumière de Pois et de Lentilles et que dans tous les cas les grains d'amidon se sont montrés plus abondants avec la glycérine qu'avec le glucose, on pourra penser que chez les Légumineuses tout au moins, si une partie du glucose absorbé par les racines est utilisé immédiatement pour épaissir les membranes et les lignifier, la glycérine au contraire semble d'abord mise en réserve pour une utilisation ultérieure.

Digitized by Google

4° *Cultures de Maïs.*

J'ai réalisé trois séries de cultures de Maïs qui m'ont permis d'étudier les modifications de structure provoquées par le glucose, le saccharose et la glycérine ; les deux premières ont été faites à l'obscurité avec le Maïs *dent de cheval* et la troisième à la lumière avec la variété dite *cinquantini*.

Première série. — Les graines pesant chacune 0 gr. 432 ont été ensemencées le 9 août 1900, les unes sur la liqueur Detmer normale, les autres sur la même liqueur additionnée de 4 pour cent de glucose. Les plantules ont été récoltées le 31 août après 22 jours de végétation et les comparaisons ont été faites à l'aide de coupes transversales pratiquées à la base de la racine.

Dans la solution Detmer le diamètre moyen de la racine exprimé en divisions du micromètre oculaire est de 355 dont 217 pour l'écorce et 138 pour le cylindre central. On distingue dans l'écorce, en dedans de l'assise pilifère une seule assise de cellules à parois encore minces mais déjà lignifiées ; le parenchyme cortical comprend en outre 11 assises cellulaires ; l'endoderme est épaissi et lignifié sur ses faces interne et latérales.

Dans le cylindre central on peut compter 15 faisceaux de bois primaire et en dedans 5 gros vaisseaux ; chacun de ces derniers est enveloppé sur son bord interne de deux rangs de cellules à parois épaissies et lignifiées, et d'un seul rang avec des parois plus minces sur le bord externe. Les cellules du péricycle commencent à épaissir leurs membranes et à lignifier les lames intercellulaires.

Avec 4 pour cent de glucose le diamètre total de la racine atteint 345 dont 145 pour le cylindre central ; l'écorce est donc un peu moins épaisse que dans le cas précédent ; le parenchyme cortical comprend 13 assises de cellules dont les deux externes ont lignifié leurs parois. L'endoderme et le péricycle ont des parois beaucoup plus épaisses que dans la solution minérale. On compte 12 faisceaux primaires et 8 gros vaisseaux internes ; ces derniers, plus étroits que dans le témoin, sont complètement enveloppés par deux rangs de cellules à parois très épaisses et lignifiées ; on observe même des cellules ligneuses qui réunissent les groupes les plus rapprochés.

Digitized by Google

Deuxième série. — Les graines du poids de 0 gr. 247 se sont développées les unes sur la liqueur Detmer, les autres sur la même solution additionnée de 4 pour cent de glycérine; la durée de végétation à l'obscurité a été de 23 jours, du 1er au 24 septembre 1900 et j'ai comparé comme précédemment les coupes faites à la base de la racine.

Sur glycérine (Pl. VII, fig. 36), le diamètre total est plus élevé que sur la solution minérale, 290 au lieu de 270, et l'augmentation porte presque exclusivement sur le cylindre central. Le parenchyme cortical comprend 15 couches de cellules dont les 3 externes ont lignifié leurs membranes qui sont en même temps légèrement épaissies, notamment pour l'assise la plus interne. Sur Detmer (pl. VII, fig. 35) on trouve 14 assises au parenchyme cortical et la plus externe seule, en certains points les deux externes ont lignifié leurs parois sans les épaissir.

Avec la matière organique les parois latérales et internes de l'endoderme sont très fortement épaissies et lignifiées ; les cellules du péricycle et principalement celles qui avoisinent les faisceaux primaires ont épaissi également leurs membranes, mais seules les lames intercellulaires sont colorées par le vert d'iode. Avec le témoin les membranes des cellules péricycliques sont restées minces et cellulosiques, l'endoderme est bien lignifié mais les parois sont bien moins épaisses.

On peut compter sur glycérine 15 faisceaux primaires et 7 gros vaisseaux internes complètement enveloppés par 2 et même 3 rangs de cellules ligneuses à parois fortement épaissies; ces mêmes cellules forment un anneau presque continu rattachant les gros vaisseaux les uns aux autres et venant même entourer les faisceaux primaires.

L'aspect de la coupe est entièrement différent sur le témoin ; il y a 11 faisceaux primaires et 5 gros vaisseaux internes plus larges que dans la solution de glycérine ; chacun d'eux est enveloppé d'une seule et parfois de 2 assises de cellules ligneuses à parois encore peu épaisses et à peine peut-on en observer quelques-unes çà et là sur le flanc des faisceaux primaires.

Enfin les éléments de la moelle présentent sensiblement le même diamètre dans les deux cas mais avec la glycérine ils sont très légèrement épaissis et lignifiés à leurs points de contact.

Digitized by Google

Troisième série. — Les cultures ont été faites à l'étuve à la température de 20° et à la lumière ; leur durée a été de 21 jours. Les solutions employées ont été les suivantes : liqueur Detmer prise comme témoin ; solution Detmer avec 3 pour cent de glucose et enfin solution Detmer avec 4 pour cent de saccharose. A cause de la température élevée l'évaporation a été intense, aussi les liqueurs se sont concentrées.

Là encore les différences de structure des racines sont profondes et du même ordre que les précédentes, portant sur les mêmes éléments : on observe des membranes minces, une lignification faible dans la liqueur minérale ; avec le saccharose, les membranes sont plus épaisses, la lignification est plus avancée ; avec le glucose on a une sclérose intense rappelant entièrement celle qui vient d'être décrite au sujet de la glycérine.

Les trois substances organiques étudiées : glucose, saccharose et glycérine déterminent donc dans les racines de Maïs des modifications de même nature qui se traduisent par un épaississement des membranes et une lignification plus avancée ; en outre la troisième série d'expériences met en relief l'importance de la pression osmotique dans ces changements de structure puisque la solution de saccharose à 4 pour cent, isotonique de 2,12 pour cent de glucose, est moins active que la solution de glucose à 3 pour cent ; elle ne contenait d'ailleurs à la fin de l'expérience que des traces de sucre interverti.

Conclusions. — Après les nombreux travaux d'anatomie expérimentale entrepris depuis une vingtaine d'années, il semble que les recherches précédentes permettent de résumer et de préciser les conditions qui font varier la structure de la plante.

Que l'on compare les végétaux cultivés au soleil ou à l'ombre, à la lumière ou à l'obscurité, à la lumière continue ou discontinue, on fait varier dans chaque cas non seulement la *proportion d'hydrates de carbone* mis à la disposition de la plante, mais encore, comme l'a montré Stange (1), *la pression osmotique interne.* Les cultures dans le sol plus ou moins arrosé, dans l'eau ou dans les atmosphères plus ou moins humides font également modifier la pression

(1) *Loc. cit.*

Digitized by Google

osmotique. Les sels minéraux, en activant la fonction chlorophyllienne, se comportent de la même manière, augmentant à la fois la proportion de composés carbonés et le poids total de matières dissoutes, et l'on comprend ainsi que tous les changements dans la structure soient toujours de même ordre : diamètre plus ou moins grand des cellules, épaississement plus ou moins prononcé des membranes, lignification plus ou moins avancée.

Les différences spécifiques constatées entre glycérine et glucose ne tiennent-elles pas elles-mêmes à une utilisation plus ou moins immédiate de ces substances qui donnerait des pressions osmotiques plus faibles avec glucose, plus élevées avec glycérine ? Car si Van Rysselberghe opérant sur des coupes minces ou des épidermes isolés a pu établir qu'à des excitations isotoniques la cellule répond par des réactions isotoniques, la pression osmotique n'atteint pas rigoureusement la même valeur, les expériences de plasmolyse avec lambeaux d'épiderme suffisent à le montrer, pour toutes les cellules d'un même végétal cultivé dans un milieu donné et à plus forte raison pour les cellules de deux végétaux cultivés sur des solutions isotoniques de substances différentes.

L'abondance des réserves d'amidon dans les cultures de Pois et de Lentille sur glycérine montre qu'une grande partie de cette substance est mise en réserve dès son arrivée dans les tissus ; on comprend ainsi que la lignification soit moins prononcée que chez les plantes cultivées sur solutions isotoniques de glucose ; mais si l'utilisation de la glycérine est immédiate, et le cas paraît être réalisé chez le Maïs qui ne forme pas de réserves d'amidon, les modifications de structure sont les mêmes qu'avec le glucose.

Une seule question reste en suspens ; elle est relative aux divisions cellulaires provoquées par certains milieux. Beauverie (1) a le premier appelé l'attention sur le rôle du chlorure de sodium en solutions concentrées dans le cloisonnement du péricycle chez le Haricot, et Bernard (2) a montré que chez la Pomme de terre il existe une concentration critique à partir de laquelle la tubérisation se manifeste.

(1) J. Bauverie : *Influence de la pression osmotique du milieu sur la forme et la structure des végétaux.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, p. 226, 1901.

(2) Noël Bernard : *Les conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux.* Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences, 22 octobre 1902.

Digitized by Google

Mes cultures de Pois sur glycérine, NaCl et AzO^3K indiquent également que le péricycle de la racine s'est épaissi et la comparaison des figures 17 à 21 des planches IV et V est particulièrement instructive à cet égard. Nous trouvons en effet dans les cultutures témoins (Pl. IV, fig. 17) une seule assise au péricycle en dehors de la portion médiane de chaque faisceau de sclérenchyme libérien ; avec les solutions de glucose (Pl. V, fig. 21), quelques cellules viennent de prendre une cloison tangentielle ; sur AzO^3K (fig. 19) le péricycle comprend deux assises cellulaires avec ce développement radial qui précède leur multiplication ; enfin, avec le chlorure de sodium (fig. 18), et surtout la glycérine (fig. 20), les cloisons sont nombreuses et l'on peut compter 4 à 5 assises cellulaires dans la même région. Avec les solutions de plus en plus étendues des mêmes substances, le phénomène est progressivement moins apparent.

Je n'ai pas constaté, comme l'indique Beauverie, de subérisation des tissus ainsi formés, mais la cause en peut être attribuée à la trop faible durée de mes cultures. Il n'en reste pas moins ce résultat important que *les solutions suffisamment concentrées de diverses substances, et principalement de chlorure de sodium et de glycérine, provoquent le cloisonnement du péricycle.*

Et comme les solutions concentrées ont certainement pour effet de déshydrater partiellement le protoplasme, on est tenté tout naturellement de rapprocher la conclusion précédente des idées de Bernard sur les conditions physiques de la tubérisation et de l'opinion des zoologistes qui considèrent la segmentation de l'œuf consécutive à la fécondation comme une conséquence de la déshydratation provoquée par la pénétration du spermatozoïde.

On peut remarquer d'ailleurs que dans la racine le péricycle peut être considéré comme une zone particulièrement critique ; c'est là que se produisent normalement les cloisonnements qui seront le point de départ de la formation des radicelles ; c'est là aussi que chez la plupart des Dicotylédones et des Gymnospermes apparaît la couche génératrice péridermique ; on peut donc penser que les phénomènes observés dans mes cultures sont en relation avec cette plus grande irritabilité du protoplasme, et les réflexions précédentes ont simplement pour but d'ouvrir la voie à des recherches sur les conditions qui président à l'apparition des formations secondaires. *(A suivre).*

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Noyau et digestion. — Miss Huie (1) observe les modifications que subissent le protoplasme et le noyau dans les poils glanduleux de *Drosera rotundifolia*, durant la digestion de divers aliments (peptone, fibrine, lait, nucléine, etc.). Le protoplasme subit une déperdition considérable de substance. Le nucléole diminue aussi de volume. La chromatine nucléaire augmente au contraire en quantité et semble vouloir se diviser en chromosomes, comme si elle se préparait à la caryokinèse.

Cette étude a été reprise par Rosenberg (2) et étendue à d'autres organes que les glandes, la racine notamment. Les substances employées sont des plus variées : peptone, légumine, viande, nucléine, caséine, pancréas, insectes, sucres, borax, nitrate de potassium, phosphaste de potassium, d'autres encore.

1° Poils glanduleux. C'est surtout sous l'action des albuminoïdes que le noyau se modifie. Le noyau se rapetisse, la chromatine devient abondante. Les grains de chromatine, d'abord localisés aux points nodaux du réseau de linine, s'unissent en bâtonnets et forment un filament avec nombreuses anastomoses tandis que la linine cesse d'être visible. La membrane nucléaire semble ne plus exister, mais elle persiste. Vers la fin de la nutrition, le filament se segmente çà et là en tronçons de chromatine inégaux. Plus tard, l'état de repos se reconstitue. Le nucléole a diminué de volume durant la digestion. L'auteur compare ces faits à la caryokinèse et en conclut que les phénomènes de la prophase sont un processus de nutrition du noyau. Les substances nutritives seraient élaborées dans la cavité nucléaire, il en résulterait une augmentation de la quantité de chromatine, mise en réserve pour l'édification des deux noyaux-fils. Quant au second processus qui conduit à la division en deux noyaux, il n'existe pas durant la digestion.

2° Assises transitoires de l'anthère. Dans ces cellules nourricières se forment quatre noyaux à la suite de deux divisions, la première par

(1) Lily Huie : *Changes in the cell-organes of* Drosera rotundifolia *produced by Feeding with egg-albumen* (Quat. Journ. Micr. Soc., t. 39). — *Changes in the gland-cells of Drosera produced by various food-materials* (Ann. of Bot., t. 12, 1898).

(2) Rosenberg : *Physiologisch-cytologische Untersuchungen über Drosera rotundifolia L.*, Upsala (Almquist et Wiksell), 126 p., 1899.

Digitized by Google

mitose, la seconde par fragmentation. Ceci a pour résultat d'augmenter la surface nucléaire. Ces cellules absorbent les substances venant des éléments voisins et les transforment dans leurs noyaux, qui deviennent ainsi très riches en chromatine, réunie souvent en masses semblables à des chromosomes. Mais le réseau de linine persiste.

3° Tissu conducteur de l'ovule. Ce tissu montre parfois dans ses noyaux une accumulation de chromatine, comme il s'en produit dans les poils glanduleux.

4° Racine. Durant la préhension des aliments (peptone ou légumine diluées), les cellules du sommet de la racine deviennent riches en plasma; la chromatine affecte dans tous les noyaux la forme de masses ou même de chromosomes plus ou moins nets avec fente longitudinale. Plusieurs cellules ont deux noyaux.

A rapprocher de ces recherches, les mémoires de Matruchot et Molliard (1) sur l'action du froid. Les noyaux de *Narcissus Tazetta* notamment présentent à basse température des modifications rappelant les premiers stades de la caryokinèse. Le réseau nucléaire tend à se disposer en fuseau, la chromatine s'accumule de préférence à l'équateur. Les auteurs attribuent ces déformations à la plasmolyse et pensent que la mort par le froid doit être considérée comme une mort par dessiccation.

Division indirecte. — Réduction chromatique. — On a longtemps considéré le nombre de chromosomes comme invariable et caractéristique de l'espèce. Ce nombre semble n'être pas d'une fixité complète chez les végétaux. Dès ses premières recherches sur le sac embryonnaire du Lis, Guignard a montré que les noyaux de la tétrade inférieure ne présentent ni le nombre réduit de chromosomes, ni le nombre constaté dans les cellules végétatives, et que les variations se produisent un peu au hasard. Dixon signala une variabilité analogue dans l'endosperme du Pin, dès que les archégones sont différenciées.

Nemec (2) constate que, chez *Allium Cepa*, il y a 12 chromosomes dans les tissus embryonnaires, mais que ce nombre diminue dans les cellules plus âgées et peut descendre jusqu'à 4. Il s'accroît au contraire dans la coiffe de la racine.

Ernst (3) remarque chez *Trillium grandiflorum* que le nombre maximum de chromosomes est 12 dans les tissus du nucelle, du tégument ovulaire et du funicule, mais que souvent il n'en existe que 8.

(1) Matruchot et Molliard : *Sur certains phénomènes présentés par les noyaux sous l'action du froid* (C. R. Ac. Sc., t. 130, 1900). — *Sur l'identité des modifications de structure produites dans les cellules végétales par le gel, la plasmolyse et la fanaison* (C. R. Ac. Sc., t. 132, 1901). — *Modifications produites par le gel dans la structure des cellules végétales* (Rev. gén. de Bot., t. 14, 1902).

(2) Nemec : *Ueber die karyokinetische Kerntheilung in der Wurzelspitze von Allium Cepa* (Jahrb. wiss. Bot., t. 33, 1899).

(3) Ernst : *Chromosomenreduktion*, etc. (Flora, t. 91, 1902).

Digitized by Google

La réduction chromatique qui se produit au moment de la formation des cellules reproductrices, ne saurait être regardée comme une préparation à la fécondation (Strasburger, 1 ; Hartog, 2), puisqu'elle préside, chez les Cryptogames vasculaires, à l'édification de toute une génération à N chromosomes (prothalle, gamétophyte). Elle peut se produire, dit Strasburger, à des stades différents du développement ontogénique dans la série des végétaux. Les gamètes peuvent n'être pas réduits au moment où ils se fusionnent et ils sont capables de développement parthénogénétique dans certaines conditions de lumière, de température, etc., ainsi que l'a établi Klebs. Chez les plantes sans alternance de générations, on a observé après la fécondation une double bipartition du noyau (*Closterium*, *Cosmarium*, Klebahn ; *Spirogyra*, Schmielinsky). Bien qu'on ne connaisse pas le processus intime de cette double division donnant naissance à deux gros noyaux et à deux petits, il est probable qu'une réduction se produit à ce moment. Chez les Diatomées, l'auxospore se développe tantôt avant (*Synedra*, Karsten), tantôt après (*Rhopalodia*, Klebahn) les deux bipartitions. Les Characées semblent ne pas présenter de division réductrice, mais le fait demande à être confirmé.

La réduction de moitié constatée dans le nombre de chromosomes des éléments reproducteurs n'implique pas une véritable réduction quantitative et qualitative de la substance nucléaire. On s'est demandé si les deux premières mitoses à N chromosomes, mitoses qui se font remarquer par diverses particularités, n'avaient pas pour résultat la réduction réelle, au sens de Weismann, du matériel chromatique. Cette question est remarquablement exposée par Guignard (3) dans un article que nous allons résumer succinctement.

Observons d'abord que les scissions longitudinales des chromosomes ou du filament nucléaire sont considérées comme n'introduisant pas de réduction réelle. Elles sont en effet préparées par le dédoublement des microsomes et s'observent dans toutes les mitoses.

Belajeff (1894) décrit comme il suit (fig. 26) les deux premières divisions nucléaires dans les cellules-mères polliniques de *Larix* et de *Lilium*. A la première mitose, chaque chromosome se scinde en 4 par deux fissures longitudinales (1 à 3'). Il se divise alors longitudinalement en deux chromosomes-fils doubles (4 à 5'). Les deux portions de ces derniers ne restent unies que par une faible étendue de leur longueur, par leur extrémité dans la fig. 26 où ces chromosomes affectent la forme d'un V ou d'un accent circonflexe. Dans les noyaux-fils, les chromosomes se soudent en un filament (6) pour s'isoler de nouveau sans changement au début de la seconde mitose. Les deux portions du

(1) Strasburger : *Ueber Befruchtung* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(2) Hartog : *Reduktionstheilung und die Funktion des Chromatins* (Biolog. Centralbl., t. 18, 1898).

(3) Guignard : *La réduction chromatique* (Année biologique 1897, p. 61).

Digitized by Google

du chromosome (7, 7') viennent s'appliquer l'une et l'autre (8, 8'). La deuxième mitose ne fait que les séparer de nouveau, et cette fois entièrement (9 à 10). Il n'y a donc pas de véritable réduction chromatique.

Strasburger avait adopté cette manière de voir (1895); mais à la suite des travaux de Farmer et Moore (1895) et de Mottier (1). Strasburger (2) modifie son interprétation (fig. 27). A la première mitose, il ne se produit qu'une seule fente longitudinale (1, 2), mais le chromosome se recourbe en U (3), il soude même souvent les deux branches de l'U, soit partiellement de façon à produire l'apparence d'un Y *(Larix)*, soit complètement et l'on a alors la forme d'un I avec deux fissures *(Lilium)*. D'autres fois, l'U se ferme en O (exceptionnel chez

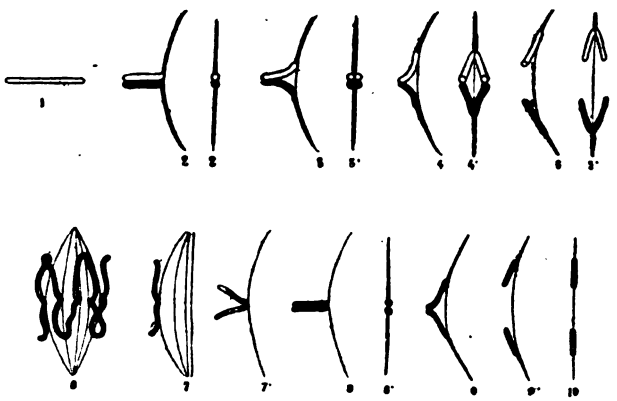


Fig. 26. — Réduction chromatique : 1 à 5', première division; 6, état de repos de l'un des deux noyaux résultant de cette division; 7 à 10, deuxième division. — Fig. schématique d'après Guignard.

Lilium, fréquent chez *Podophyllum*). La première division dédouble le chromosome suivant l'unique fente (4, 5, 6). Dans la deuxième division, il ne se produit pas de fente en long; le chromosome après avoir appliqué ses deux moitiés l'une sur l'autre (7, 8, 9), se coupe transversalement en deux (10 à 13). Il s'agit donc d'une véritable réduction au sens de Weismann, réduction quantitative et qualitative.

Miss Sargant (3) confirme les descriptions de Guignard pour le sac embryonnaire du Lis. Les deux premières mitoses se produisent avec scission longitudinale. Il en est de même pour les cellules-mères

(1) Mottier : *Beiträge zur Kentniss der Kerntheilung in den Pollenmutterzellen einiger Dicotylen und Monocotylen* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(2) Strasburger : *Ueber Cytoplasmastrukturen, Kern-* und *Zelltheilung* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(3) Sargant : *The formation of the sexual nuclei in Lilium Martagon*. I. *Oogenesis*, II *Spermatogenesis* (Ann. of Bot., t. 10, 1896 et t. 11, 1897).

Digitized by Google

polliniques. On aperçoit à la prophase de la première division une fissure en long et quatre rangées de microsomes.

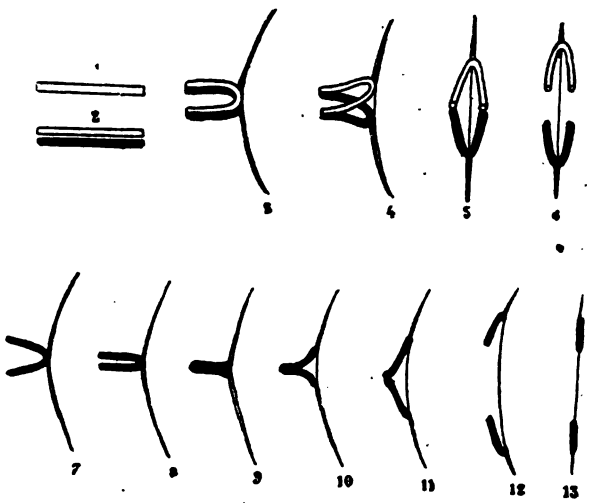


Fig. 27. — Réduction chromatique : 1 à 6, première division ; 7 à 13, deuxième division. — Fig. schématique d'après Guignard.

Mottier (1) décrit de la même façon les divisions du sac embryonnaire du Lis.

Strasburger et Mottier (2) reprennent alors l'étude des mitoses

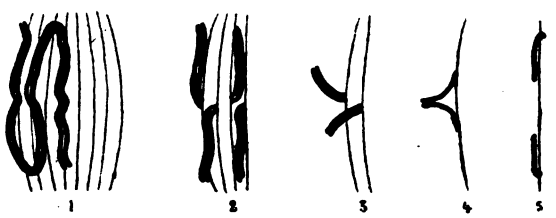


Fig. 28. — Réduction chromatique : deuxième division, — Fig. schématique d'après Guignard.

polliniques et concluent qu'il n'y a pas de vraie réduction. Le filament chromatique est dédoublé longitudinalement avant l'isolement des chromosomes à la seconde division (fig. 28).

(1) Mottier : *Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks* (Jahrb. wiss. Bot., t. 31, 1898).

(2) Strasburger et Mottier : *Ueber den zweiten Theilungsschnitt in Pollenmutterzellen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 15, 1897).

Digitized by Google

Dans les cellules-mères des spores des Fougères, Calkins (1) trouve des chromosomes en trétades ou groupes quaternes comme chez divers animaux. Il y a fissure en long à la première division, coupure en travers à la seconde, donc réduction réelle.

Cette manière de voir est combattue par Stevens (2), qui déclare les chromosomes de ces plantes fissurés longitudinalement avant leur séparation pour la deuxième mitose.

Belajeff (3) reprenant cette étude dans *Iris*, oppose les mitoses exceptionnelles aux mitoses végétatives. Dans les noyaux végétatifs, les chromosomes sont fissurés dès la phase du peloton; une fois séparés, ils s'incurvent et s'appuient sur les fibres du fuseau par le sommet de la courbure. Dans les noyaux des cellules mères, leur forme est différente, ce sont des V, des Y, des X. La première mitose les dédouble sans leur faire perdre leur forme, la seconde isole les deux branches du V, de l'Y, de l'X. Cette dernière division est donc vraiment réductrice.

Belajeff admet que les deux branches des figures en V, Y, X, représentent en réalité deux chromosomes différents, ce qui expliquerait leur nombre réduit. Guignard déclare cela en opposition avec ce qu'il a observé chez *Naias*. Le filament nucléaire de cette plante se coupe d'emblée en 6 chromosomes de longueur inégale au lieu de 12 ; les chromosomes sont fissurés longitudinalement même avant leur séparation. On y distingue bientôt 4 rangées de microsomes et une deuxième fente en long. Il n'y a pas non plus recourbement des chromosomes et soudure de leurs deux moitiés, comme le pensent Strasburger et Mottier.

En résumé, ni Guignard, ni Strasburger n'admettent maintenant l'existence d'une véritable réduction chromatique au sens de Weismann. C'est là aussi l'opinion généralement acceptée. Quelques auteurs cependant croient, avec Belajeff, à la réduction réelle.

(1) Calkins : *Chromatinreduktion and tetradformation in Pteridophytes* (Contr. Depart. Bot. Columbia Univ., 1897).

(2) Stevens : *Ueber Chromosomentheilung bei den Sporenbildung der Farne* (Ber. deustch. bot. Ges., t. 16, 1898).

(3) Belajeff : *Ueber Reduktionstheilung des Planzenkerns* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 16, 1898).

(*A suivre*). H. Ricôme.

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

FORME CONIDIENNE ET SCLÉROTES

DE

MORCHELLA ESCULENTA Pers.

par M. Marin MOLLIARD

(Planche 16).

Dans une note récente (1) j'ai annoncé qu'on peut obtenir expérimentalement la forme conidienne de la Morille et que celle-ci se rapporte au genre *Costantinella* Matruchot ; c'est sur la description de cette Mucédinée, ainsi que sur les conditions dans lesquelles j'ai pu l'observer que je désire donner ici de plus amples détails.

MYCÉLIUM

On obtient très aisément le mycélium des différentes espèces de Morilles en partant de l'ascospore ; dans tout ce qui suit je me contenterai de décrire les faits qui sont relatifs à *Morchella esculenta* Pers. var. *rotunda* ; on n'observe en effet pour *M. conica* et *M. deliciosa*, sur lesquelles j'ai également expérimenté, que des différences de détail sans importance.

Brefeld (2) signale brièvement cette germination facile des ascospores de Morilles et l'obtention d'un mycélium brun. Si on recueille aseptiquement les ascospores dans de l'eau stérilisée on constate que le lendemain de leur mise en liberté beaucoup d'entre elles ont déjà commencé à germer ; elles poussent un tube mycélien à l'une de leurs extrémités ou, plus fréquemment, c'est aux deux bouts qu'elles se développent (fig. 1, *a*, *b*, *c*) ; les filaments ne tardent pas à se ramifier et à acquérir des cloisons transversales ; quand la germination s'effectue sur un milieu sucré il se forme

(1) Molliard : *Mycélium et forme conidienne de la Morille* (C. R. Acad. Sc. fév. 1904).

(2) Brefeld : *Untersuch. aus dem Gesammtgeb. der Mykologie*. X. 1891, p. 340.

Digitized by Google

bientôt un abondant mycélium blanc dont les plus gros filaments mesurent environ 25 μ de diamètre, les plus fins 5 à 6 μ, la taille moyenne, la plus fréquente, étant de 12-15 μ.

Le protoplasma apparaît dans ce mycélium jeune comme homogène, très finement granuleux, assez fortement réfringent ; de bonne heure certaines cellules se différencient des autres (fig. 2 *v*) par leur aspect hyalin ; ce sont des cellules vides de protoplasma, celui-ci s'étant porté vers l'extrémité des filaments.

Lorsque la culture vieillit, au bout de 15 jours environ, le mycélium prend une teinte brunâtre, puis acquiert une coloration brun foncé définitive, qui est en rapport avec une cutinisation de la membrane des filaments ; cette cutinisation a lieu uniformément et d'une manière assez faible pour beaucoup de filaments, lorsque ceux-ci se développent dans un milieu très humide ; si l'atmosphère est plus sèche la membrane des plus gros filaments acquiert une fine échinulation correspondant à des épaississements locaux et très restreints de la membrane ; cette échinulation est toujours un peu plus accentuée au voisinage des membranes transversales.

En se desséchant les filaments prennent très communément la forme de lames aplaties, surtout en ce qui concerne les cellules qui se sont vidées de protoplasma, et on observe pour le mycélium un aspect tout à fait semblable à celui que présentent dans les mêmes conditions les filaments de *Botrytis*.

La cutinisation des filaments devient très intense dans certaines conditions de nutrition ; c'est ainsi que le mycélium, cultivé sur du papier trempant dans une solution glucosée à 2 0/0 et contenant 0,5 0/0 d'azotate de potassium ou d'ammonium, forme à quelque distance du substratum des masses floconneuses qui prennent bientôt une coloration noire, alors que sur papier imbibé de jus de carotte elles restent pâles ; les filaments qui les constituent ont une membrane excessivement foncée, absolument noire en certaines régions ; de plus, au lieu d'une légère échinulation, on observe des épaississements accentués, très proéminents, nettement distincts et très foncés.

La formation d'anastomoses entre filaments voisins est un phénomène fréquent ; les figures 5 et 6 représentent quelques exemples de leur disposition ; les figures 3 et 4 correspondent à deux filaments observés en chambre humide à 24 heures d'inter-

Digitized by Google

valle et montrent l'existence de deux tubes mycéliens allant à la rencontre l'un de l'autre pour arriver à se souder (a_1, a_2), par suite de la disparition de la partie terminale de leurs membranes.

A la présence de cellules vides de protoplasma est liée la formation de nouveaux filaments qui proviennent d'un développement ultérieur des cellules vivantes voisines, qui arrivent à remplir plus ou moins complètement la cavité cellulaire. Ou bien une seule des deux cellules limitant celle qui est réduite à sa paroi donne ainsi naissance à un ou deux filaments internes par rapport à la membrane de la cellule vide, ou bien les deux cellules voisines présentent à la fois le même phénomène ; les deux filaments se développant en sens inverse, peuvent venir se souder par leurs extrémités et n'en plus former qu'un seul ; dans d'autres cas (fig. 7) chacun d'eux (f et f') parcourt toute la longueur de la cellule vide et peut se souder à la cellule au devant de laquelle il se dirige, à travers la membrane transversale à laquelle il aboutit et qu'il écarte ou dissout.

La disposition de ces filaments internes peut ainsi varier dans le détail par le nombre des filaments issus de chaque cellule limitant une cellule vide, par le nombre et la disposition des cellules vides qui peuvent être contiguës, enfin par la ramification possible de ces filaments secondaires à l'intérieur de la membrane primitive (fig. 6, f') ; on se retrouve en présence d'un phénomène qui s'observe pour plusieurs mycéliums, mais est ici particulièrement fréquent.

Lorsque les filaments mycéliens ont été déchirés, par exemple lors d'une prise de certains d'entre eux destinés à l'observation, ils sont capables de se cicatriser par la formation, au voisinage de la rupture d'une cellule, d'un certain nombre de cloisons plus ou moins obliques, assez rapprochées, se raccordant souvent les unes aux autres ; ailleurs, probablement lorsque le filament considéré est au contact du substratum, on observe dans la région lésée un véritable bouturage, la partie inférieure du filament rompu redonnant un nouveau tube mycélien, comme nous l'observerons plus loin pour l'appareil conidien.

Les cultures du mycélium de Morille ont été surtout faites sur des milieux nutritifs naturels tels que la carotte, qui constitue un excellent aliment ; j'ai songé aussi à employer comme milieu de

Digitized by Google

culture la pomme, en raison de nombreuses observations personnelles ou de différents auteurs qui rapportent des cas d'apparition de Morilles dans des endroits où avaient été accumulées des pommes ou des poires ; en fait le mycélium se développe rapidement sur de la compote de pommes stérilisée, à condition toutefois que la concentration du jus ne soit pas trop grande ; la compote noircit assez rapidement au contact du champignon qui sécrète probablement une oxydase énergique. Parmi les milieux artificiels employés, ceux qui m'ont donné les meilleurs résultats sont des solutions de glucose à 2 °/o additionnées des sels du liquide de Knop (eau, 1000 — azotate de calcium, 1 — phosphate de calcium, 0,25 — azotate de potassium, 0,25 — sulfate de magnésium 0,25 — traces de phosphate de fer) : l'azotate de potassium ajouté seul à l'eau de rivière glucosée favorise nettement le développement, l'azotate d'ammonium est au contraire rapidement nuisible.

Les cultures faites sur des bandes de papier baignant dans un liquide, et par des ensemencements effectués à la partie moyenne libre du papier, ont permis d'observer un hydrotropisme très accentué du mycélium qui se dirige vers la région inférieure plus humide.

On peut aussi obtenir le mycélium pur de la Morille en transportant sur les milieux nutritifs non plus des ascospores, mais de petits morceaux de la chair de l'appareil ascosporé prélevés aseptiquement ; le faux tissu constituant cette chair donne rapidement des filaments mycéliens en tout semblables à ceux qui ont été obtenus par la méthode ordinaire.

FORME CONIDIENNE

C'est à partir des cultures pures du mycélium de la Morille que j'ai réussi à obtenir la forme conidienne de ce Discomycète. Les conditions dans lesquelles j'ai opéré sont les suivantes.

Quatre pots de 20 cm. de diamètre ont été remplis de terreau au commencement de décembre dernier ; j'ai ajouté à quelque distance de la surface une certaine quantité (250 gr. environ) de compote de pommes et le contenu d'une ou de deux cultures du mycélium en tube de carotte. Le tout était abandonné dans une serre froide et le terrain maintenu humide. Vers la fin de janvier et presque simul-

Digitized by Google

tanément j'ai observé dans les 4 pots ainsi ensemencés le développement d'une moisissure blanche qui recouvrait bientôt toute la surface du terreau et gagnait un peu les parois du vase ainsi que les morceaux de bois qui servaient d'étiquettes.

L'examen de cette Mucédinée permet de la rapporter sans aucun doute possible au genre *Costantinella* créé par Matruchot (1) pour une moisissure, *C. cristata*, rencontrée par lui sur des feuilles mortes dans le bois d'Ecouen. Les filaments mycéliens qui sortent du terreau se ramifient à sa surface d'une manière abondante et sur ces sortes de stolons se constituent des buissons conidiens dont chaque élément est formé par un long filament brunâtre (fig. 8, *st.*), à membrane finement échinulée dans toute sa longueur ; ce sont les rameaux nés de cet axe stérile qui portent des conidies.

Les filaments sporifères restent incolores et ne présentent pas d'ornementation dans leur membrane ; ils portent vers leur partie terminale des verticilles de basides, situés immédiatement au-dessous des cloisons transversales ; chacun de ces verticilles est constitué en moyenne par six basides qui ont une forme d'S allongé. Les conidies naissent successivement à l'extrémité de ces basides et chacune laisse comme trace de son insertion un épaisissement cutinisé proéminent, d'où résulte la formation d'une crête double (fig. 11, *cr*), les spores s'insérant alternativement sur deux rangées parallèles très proches l'une de l'autre et constituées chacune, après la chute des spores, par ces restes de stérigmates. Les conidies (fig. 10) sont incolores, sphériques, et leur diamètre est en moyenne de 4 μ, 5.

Il était très vraisemblable qu'on était en présence de la forme conidienne de la Morille ; déjà le fait que les 4 semis de mycélium pur ont abouti au développement de cette Moisissure, qui est loin d'être banale, semblait montrer qu'on n'avait pas affaire à une simple coïncidence ; d'autre part les appareils conidiens naissent sur des filaments mycéliens qui présentent tous les caractères du mycélium introduit dans le terreau (dimensions, coloration, anastomoses, fine échinulation quand ils deviennent aériens). Mais une incertitude subsistait provenant de ce que les cultures n'étaient pas aseptiques.

(1) Matruchot : *Recherches sur le développement de quelques Mucédinées* 1892, p. 92, Pl. VIII.

Digitized by Google

Les conidies du *Costantinella* obtenu ont été ensemencées dans des conditions aussi variées que possible (eau, eau glucosée, liquide Raulin, liquide Knop, différents liquides gélatinés ou gélosés, carotte, pommes, pommes de terre, feuilles mortes, bois pourri, etc.) et ces essais de germination n'ont donné que des résultats négatifs ; tout ce que j'ai pu observer, et encore très rarement, c'est, en chambre humide, une légère déformation de la conidie ; certaines s'allongent de manière à acquérir dans un sens une longueur double de leur diamètre primitif ; on croirait assister au début de la formation d'un tube mycélien ; mais les choses en restent là et je n'ai jamais pu obtenir à partir de ces conidies de développement de filaments.

Mais si on ne peut réussir à revenir au mycélium de la Morille en partant des conidies, on peut y arriver en transportant sur des milieux stérilisés des fragments d'appareils conidiens ; ceux-ci se comportent de façon à produire un véritable bouturage ; de nouveaux filaments se constituent en effet soit aux dépens du long filament stérile qui reprend un nouveau développement par son extrémité, soit aux dépens des rameaux fertiles ; on peut observer en effet la formation de filaments ordinaires à partir de l'axe conidien ou de basides déjà plus ou moins différenciées ; souvent aussi c'est dans la région où s'est affectuée la rupture du filament que celui-ci reprend un nouveau développement, en sens inverse par conséquent du développement initial (fig. 14).

Le mycélium ainsi reproduit est de tout point semblable à celui qu'on a introduit dans le terreau, et nous avons vu que ses caractères sont suffisamment nombreux et précis pour qu'on ne puisse plus douter de l'assimilation de la Mucédinée observée à la forme conidienne de la Morille ; nous en aurons du reste plus loin une démonstration décisive.

J'ai répété à partir du mois de février une série de nouveaux semis de mycélium dans du terreau auquel j'ajoutais des pommes ou des carottes cuites et chaque fois, 8 jours après l'ensemencement, j'ai obtenu très régulièrement et sans aucun insuccès (20 pots ont été ainsi ensemencés à diverses reprises) le même développement de *Costantinella*.

Le tapis blanc, puis brunâtre, constitué à la surface des pots par cette moisissure dure environ une quinzaine de jours, puis

Digitized by Google

disparaît, les appareils conidiens se flétrissant et s'affaissant ; après cette première poussée conidienne, il s'en effectue de nouvelles à intervalles irréguliers, ne donnant plus lieu à un développement aussi homogène et paraissant être déterminées par des conditions d'humidité du terreau (c'est principalement après des arrosages que ces nouvelles formations de *Costantinella* avaient lieu).

J'ai naturellement tenté d'obtenir en culture aseptique le développement de cette Mucédinée ; essayant de me mettre dans des conditions aussi voisines que possible de celles qui sont réalisées dans les cultures précédentes en pots, j'ai semé le mycélium dans du terreau stérilisé qui recouvrait dans des ballons de 1 litre une couche de compote de pommes ; le mycélium ne tardait pas à se développer abondamment à la surface du terreau, mais au lieu d'y former des appareils conidiens, il continuait son développement en filaments stériles qui remplissaient tout ou partie de l'atmosphère du ballon.

Comment s'expliquent ces différences dans la manière dont se comporte dans les deux cas le même mycélium ? J'ai pu montrer que l'apparition des appareils conidiens est sous la dépendance d'un faible état hygrométrique de l'atmosphère. On peut en effet facilement empêcher la production des conidiophores dans les cultures en pots en recouvrant une partie de la surface du terreau par une cloche en verre ; alors que les appareils conidiens se développent bien tout autour de la cloche, on n'observe à son intérieur qu'un mycélium floconneux stérile.

Inversement j'ai pu faire apparaître des appareils conidiens dans des cultures aseptiques opérées en ballons, en empêchant la saturation de l'atmosphère en vapeur d'eau de s'opérer ; à cet effet je traversais le bouchon d'ouate par un tube de verre dont la partie inférieure aboutissait à quelque distance de la surface du terreau et que je mettais en communication avec une trompe à eau de manière à établir un renouvellement continu de l'air à travers le tampon de coton.

Dans les cultures faites sur carotte en tubes on observe fréquemment, à quelque distance du substratum, de petits buissons mycéliens qui rappellent beaucoup par leur disposition générale des appareils conidiens, mais qui ne constituent jamais de basides.

Il est très vraisemblable que ces conditions de formation des

Digitized by Google

appareils conidiens ne sont pas spéciaux à la Morille et qu'on pourra obtenir par la méthode que j'indique ici les formes conidiennes de beaucoup de mycéliums d'Ascomycètes qu'on n'a pu jusqu'ici cultiver qu'à l'état indéfiniment stérile.

Le *Costantinella* qui vient de nous occuper présente dans ses caractères microscopiques une grande ressemblance, sinon une identité complète avec *C. cristata* Matr. ; à peine peut-on trouver une légère différence dans la dimension des conidies (4,5 au lieu de 4 μ) : mais la figure 10 montre suffisamment que cette dimension moyenne n'a pas grande importance, puisque la taille des conidies est assez variable ; biologiquement les deux formes sont aussi absolument comparables : dans les deux cas les conidies sont incapables de germer, dans les conditions où on opère actuellement dans les laboratoires.

S'il existe une différence appréciable entre les deux Mucédinées, c'est peut-être plutôt dans l'aspect extérieur qu'il faut la chercher ; *C. cristata*, que j'ai observé à plusieurs reprises sur de la terre humide d'où elle gagne souvent les tiges et les feuilles mortes ou vivantes se trouvant dans le voisinage, paraît plus diffus et les appareils conidiens moins étroitement serrés les uns contre les autres ; mais on peut aisément admettre que ces aspects un peu différents sont simplement dus aux conditions différentes de végétation.

SCLÉROTES

En outre de la forme conidienne, le mycélium de la Morille peut donner des sortes de sclérotes ; ceux-ci ont été observés surtout à partir du mois de février dans des cultures de mycélium provenant d'ascospores germées l'année précédente ; il semble qu'on soit ici en présence d'une influence saisonnière analogue à celle qui correspond à l'apparition des conidiophores dans les pots ensemencés à l'automne ou l'hiver précédent.

Ces sclérotes ont deux aspects principaux suivant les conditions de culture ; sur le fumier stérilisé en tube il se constitue, soit contre le verre, soit à l'intérieur du fumier un certain nombre de petites masses isolées, brunes, dures, se laissant facilement couper, d'odeur et de saveur agréables, et dont les grosses mesurent 7,5 mm de diamètre ; dans des milieux plus aqueux tels que les tranches

Digitized by Google

de carotte, ou sur des liquides tels que du bouillon de pommes où le mycélium se développe bien, il se constitue à la surface du substratum ou du liquide, ainsi que contre les parois du verre une série de très petits sclérotes rapprochés qui se fusionnent et forment bientôt une croûte continue, assez épaisse, ayant les mêmes caractères que les sclérotes isolés. Les cultures du mycélium obtenu à partir des appareils conidiens ont présenté un développement particulièrement abondant de ces formations.

Les sclérotes débutent par un cloisonnement plus fréquent du mycélium dont les cellules présentent un protoplasma plus grossièrement granuleux et riche en gros globules huileux, colorables par la teinture d'alkanna et en jaune par les vapeurs d'acide chlorhydrique. Les figures 15 et 16 montrent l'aspect que prennent les filaments qui vont concourir à la formation d'un faux tissu ; les diverses ramifications des filaments primitifs ne donnent plus que des cellules sphériques de 20-40 μ de diamètre, qui bourgeonnant, se pressent les unes contre les autres et constituent des amas compacts dont on a représenté une coupe dans la figure 17 ; on reconnaît encore dans cette coupe les filaments principaux allongés et les filaments secondaires uniquement constitués par des cellules sphériques. A la surface de ces formations, les filaments principaux apparaissent comme libres et ce sont eux qui donnent aux sclérotes leur coloration brune et leur aspect velouté.

Le faux tissu de ces sclérotes est en tout point comparable à celui qui constitue la chair de l'appareil ascosporé.

CONCLUSIONS

En résumé nous constatons que le mycélium de la Morille, obtenu en cultures pures à partir de l'ascospore ou du faux tissu de l'appareil ascosporé, donne comme forme conidienne un *Costantinella* excessivement affine, sinon identique, à *C. cristata* ; c'est la première forme conidienne qui soit signalée chez les Helvellacées.

Ce genre, voisin des *Nodulisporium* et des *Cristularia* par ses caractères morphologiques, pouvant être avec ceux-ci compris dans le genre *Botrytis* entendu dans son acception la plus large, nous apparaît donc comme devant se rapporter à des espèces qui

Digitized by Google

sont des formes conidiennes de Discomycètes, peut être exclusivement d'Helvellacées.

La condition essentielle qui préside à la formation des appareils conidiens de la Morille est un état hygrométrique suffisamment peu élevé de l'atmosphère qui se trouve au contact du substratum à l'intérieur duquel se développe le mycélium.

Les Morilles présentent une forme sclérote, faux tissu tout à fait comparable à celui qui constitue la chair de la forme parfaite, dont elle n'est probablement qu'un début.

EXPLICATION DE LA PLANCHE 16

Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire.
Le grossissement linéaire est de :
100 pour la figure 2 ;
275 pour les figures 1, 3-9, 14-17 ;
600 pour les figures 10-13.

Digitized by Google

SUR UN STREPTOTHRIX

CAUSE DE L'ALTÉRATION DES AVOINES MOISIES

par M. D. BROCQ-ROUSSEU

(Planche 17).

Fréquemment, on trouve dans le commerce, des avoines qui exhalent une odeur de moisi. Les gens du métier reconnaissent très bien cette odeur et ils désignent ces avoines sous le nom *d'avoines moisies*.

La plupart des chevaux se refusent à consommer une avoine ainsi altérée, ce qui constitue, pour les agriculteurs, une perte très appréciable.

On soupçonne la cause d'être de nature parasitaire, mais on n'a jamais décrit de parasite causal. On ignore d'ailleurs si cette altération est due au développement de un ou de plusieurs parasites.

Pratiquement, l'étude de cette question aurait pour intérêt de rendre possible la recherche de moyens propres à éviter la production de l'altération, ou l'utilisation des avoines avariées.

C'est dans ce but que j'ai entrepris l'étude qui va suivre et qui porte sur 5 échantillons.

I. — ÉTUDE D'AVOINES AVARIÉES

1er Échantillon

Avoine noire de Brie, récoltée en 1903.

Un grand nombre de grains sont ternes et présentent par places des taches gris sale : sur presque tous on remarque de petits points blancs très fins. Elle exhale une odeur accentuée très caractéristique. J'ai cherché à cultiver les espèces végétant à la surface des grains, dans les principaux milieux usités en bactériologie et en outre dans des milieux à base d'avoine. Dans chaque tube de culture,

Digitized by Google

j'ai placé un grain de l'avoine altérée; un très grand nombre de tubes ont été ainsi ensemencés.

Trois jours après la mise à l'étuve à 37° chaque tube renferme diverses espèces :

J'ai pu isoler à l'état pur les espèces suivantes :

1° un *Mucor* ;
2° » *Sterigmatocystis* ;
3° » *Cladosporium* ;
4° » *Aspergillus* ;
5° » *Penicillium* ;
6° » *Streptothrix* ;
7° des bactéries { deux en forme de Coccus ; une en forme de Streptobacille.

Parmi toutes ces cultures, seule la culture du *Streptothrix* donne l'odeur de l'avoine moisie.

Il est donc vraisemblable d'admettre que c'est ce *Streptothrix* qui est la cause de l'altération.

Avant d'en chercher la démonstration, et d'ailleurs pour la faciliter, faisons l'étude de ce Streptothrix.

Caractères des cultures

1° MILIEU AÉROBIE.

Gélose peptonisée. — Ce milieu est très favorable à son développement. Au début la culture est de couleur grisâtre, de consistance ferme ; irrégulièrement arrondie, à bords nets et surélevée en son centre : elle adhère fortement au milieu sous-jacent. Plus tard, en son centre, apparaît une tache blanche, arrondie, d'aspect plâtreux, se détachant facilement ; cette tache gagne circulairement jusqu'à couvrir entièrement la première forme de la culture. Lorsque la culture est vieille, la surface de la gélose est complètement envahie par une efflorescence blanche, d'aspect plâtreux. Elle dégage une légère odeur.

Gélose mannitée. — Culture irrégulièrement arrondie, élevée en son centre, gris terne, vernissée, semi-transparente, se crevassant par places ; adhérence très forte à la gélose ; même odeur que précédemment. Elle diffère de la culture sur gélose peptonisée en ce qu'il ne se produit aucune efflorescence blanche à la surface.

Digitized by Google

Gélose glucosée à 5 %. — Développement nul.

Gélatine. — En piqûre, il se développe des touffes blanchâtres, arrondies, qui ne tardent pas à liquéfier la gélatine. Lorsque la liquéfaction est complète, les parties au contact de l'air prennent l'aspect efflorescent décrit plus haut.

Bouillon peptone. — Dépôt blanchâtre au fond du bouillon ; en agitant, on voit qu'il est composé de touffes isolées, grisâtres, circulaires, qui plus tard, viennent saillir à la surface du liquide en colonies isolées, blanches, couvertes d'une efflorescence plâtreuse. Ces colonies deviennent confluentes et finissent par constituer à la surface du bouillon une pellicule blanche continue.

Eau de rivière. — Même aspect qu'un bouillon, mais développement très faible.

Pomme de terre ordinaire ou glycérinée. — Culture sèche, d'aspect plâtreux, blanche, s'étendant irrégulièrement jusqu'à envahissement complet du milieu.

Sur les bords de la culture, le milieu sous-jacent est rose ; plus tard, il devient bleu, puis violet presque noir. Odeur très forte de moisi.

Carotte. — Fait curieux, ce *Streptothrix* qui pousse si bien sur la plupart des milieux usuels, ne pousse pas sur carotte.

Milieux à base d'avoine. — Grains, écorces, farine ou amidon. Le *Streptothrix* pousse sous forme de touffes ou d'efflorescences blanches. La culture répand une odeur de moisi très caractéristique.

2° MILIEU ANAÉROBIE

Le *Streptothrix* ne pousse pas en milieu anaérobie. Une culture en pleine activité est mise en anaérobie ; aussitôt, le développement s'arrête ; mais le parasite n'est pas tué, car réensemencé longtemps après, il donne des cultures florissantes.

Caractères morphologiques

Les touffes du *Streptothrix* sont constituées par des filaments enchevêtrés les uns dans les autres, serrés dans les parties centrales et distincts seulement à la périphérie. Ces filaments sont droits ou ondulés ; leur largeur varie entre 0,5 et 1 μ ; ils se ramifient à angle droit ; les ramifications sont en général assez courtes.

Digitized by Google

Dans les filaments âgés, la dégénérescence protoplasmique donne des formes assez particulières. Si le filament est étroit et mince, on voit une série de gros granules qu'on prendrait au premier abord pour des spores (Pl. 17, fig. 7 et 9 d). Si le filament est plus large, on rencontre parfois deux séries plus ou moins régulières de ces granulations, ce qui indique bien qu'il ne s'agit pas de formes sporifères, mais bien d'un mode de dégénérescence (fig. 7 et 9 c).

Suivant diverses conditions particulières à l'âge, à la nature des milieux, etc., etc., le champignon peut présenter diverses formes.

1° Des formes oospora (fig. 8).

A l'extrémité d'un filament plein, on voit tout à coup le protoplasma se condenser en différents endroits du mycélium et donner naissance à des spores en chapelets centripètes. La spore est ovale, une fois et demie plus longue que large, ressemblant à un bacille trapu. C'est la forme normale du champignon dans sa station naturelle.

2° Des formes bacillaires (fig. 2 et 6).

A côté des filaments décrits plus haut, on en trouve d'autres, cloisonnés assez irrégulièrement, et de façon à constituer des chaînes d'articles assez courts, qui après leur dissociation, pourraient être pris pour des bacilles étrangers à la culture. Ainsi que j'ai pu m'en assurer par un très grand nombre d'examens, portant sur un grand nombre de cultures, il s'agit bien là d'une forme du *Streptothrix*. On trouve en effet ces formes cloisonnées, en place sur le trajet d'un filament ailleurs continu, et d'autre part, dissociés dans la culture.

3° Des formes de fragmentation (fig. 3 et 4).

Le protoplasma se condense en différents points du mycélium ; mais très irrégulièrement. Entre des espaces vides, de longueurs très différentes, on trouve du protoplasma sur des étendues également très variables.

Coloration. — Les méthodes habituelles de coloration peuvent être employées ; il prend bien le Gramm. Le Zichl dilué, le colore bien, rapidement et montre assez nettement les différents détails.

Résistance a la chaleur

J'ai recherché le degré de résistance du *Streptothrix*, soumis à

Digitized by Google

des températures plus ou moins élevées en milieu humide et dans une atmosphère desséchée. Les expériences ont porté sur des séries de cultures assez nombreuses.

J'ai constaté qu'il ne résiste pas à des températures élevées : tous les tubes qui ont été soumis à des températures variant de 65 à 70°, n'ont pu, après de nouveaux ensemencements, reproduire le parasite.

Je puis donc conclure qu'il est tué aux environs de 70°. Des recherches ultérieures seront faites en vue de préciser ce point important de la biologie du Streptothrix.

Le Champignon étant connu, cherchons les preuves de son action exclusive dans la production de l'avarie en cause. Si ce *Streptothrix* est la cause de l'avarie, il doit répondre, entre autres, aux conditions suivantes :

I. — Exister sur tous les grains avariés.

II. — En favorisant le développement du *Streptothrix*, on doit accentuer l'altération.

III. — On doit reproduire avec lui, et à l'exclusion de toute autre cause, l'altération sur des avoines stérilisées.

Les recherches que j'ai entreprises m'ont fait voir que ce *Streptothrix* répond à ces conditions.

I. — IL EXISTE SUR TOUS LES GRAINS AVARIÉS

On peut le constater de deux façons :

a) Par l'examen microscopique.

Sur les grains on aperçoit de petites masses blanchâtres qui, colorées par l'éosine ou le Zichl, se montrent constituées par des amas filamenteux généralement assez courts, des formes bacillaires et des formes oospora semblables à celles que nous avons décrites plus haut.

b) Par des cultures.

La gélose étant ainsi que je m'en suis assuré, un milieu sur lequel les diverses espèces dont il a été question, poussent généralement assez mal, si l'on ensemence en grand nombre des tubes de gélose peptonisée, chacun avec un grain d'avoine, on obtient à coup sûr le développement du *Streptothrix* dans chaque tube.

Digitized by Google

Le milieu est tellement favorable au développement de celui-ci qu'il envahit la culture à l'exclusion presque totale des autres espèces (sauf les coccus qui poussent bien).

II. — En favorisant le développement du *Streptothrix* on doit accentuer l'altération

En soumettant les grains avariés aux conditions de chaleur et d'humidité qui sont les conditions naturelles de la production de l'avarie, on doit presque toujours favoriser le développement de ce *Streptothrix* à l'exclusion des autres espèces. On peut arriver à ce résultat en mettant un grain d'avoine à la surface d'un tampon de coton hydrophile contenu dans un tube stérile et renfermant de l'eau à sa partie inférieure. Quelques jours après, le grain est parsemé de points blancs dont le nombre va en augmentant et il se trouve finalement couvert d'une efflorescence blanche qui n'est autre que le *Streptothrix*.

Il est très rare que d'autres moisissures se développent ; quand cela a lieu ces espèces n'envahissent le grain que très discrètement et au bout de quelques mois, alors qu'après une dizaine de jours, le développement de *Streptothrix* est abondant.

III. — Reproduction de l'altération

Dans des flacons d'Erlenmeyer, je mets d'une part de l'avoine avec une petite quantité d'eau, de l'autre des écorces d'avoine broyées. Le tout est stérilisé.

Le *Streptothrix* ensemencé sur ces milieux donne après quelques jours des cultures typiques dans les deux séries.

Sur les grains d'avoine entiers, la culture envahit le grain jusqu'à le recouvrir d'une efflorescence blanche analogue à celle que l'on constate dans l'expérience précédente.

Sur les écorces broyées, la culture blanche couvre toute la surface et montre à l'examen microscopique des filaments fragmentés et de formes bacillaires.

L'odeur de cette culture est celle de l'avoine moisie.

De l'ensemble de ces faits on peut conclure que c'est un *Streptothrix*, dont j'ai donné les principaux caractères, qui cause l'altération du premier échantillon d'avoine moisie que j'ai examiné.

Digitized by Google

2e, 3e, 4e et 5e Echantillons.

Ces échantillons proviennent de régions différentes (Oise, Indre, Bretagne, Charente).

En procédant exactement, comme il vient d'être dit pour le 1er échantillon, j'ai constaté que dans chacun de ces lots, l'altération est produite par un *Streptothrix* présentant les mêmes caractères que le précédent.

De ceci, on peut conclure que le *Streptothrix* en question est la cause générale de l'altération des avoines moisies.

II. — ÉTUDE D'AVOINES SAINES

La présence du *Streptothrix* est-elle accidentelle ou bien générale, et les avoines ne s'altèrent-elles que sous certaines influences, portant en elles le germe de leur altération.

Pour répondre à cette question, il était nécessaire d'examiner un grand nombre d'avoines saines. J'ai examiné des échantillons des régions les plus diverses de la France, des récoltes 1902 et 1903.

Voici les régions d'où sont parvenues ces avoines : Beauce, Avoine du Centre, Vincennes, Versailles, Châlons sur-Marne, Saint-Cloud, Haute-Vienne, Marseille, Nancy, Poitou, Rambouillet, Camp de Châlons, Chartres, Indre, Charente, Bretagne, Compiègne. Toutes ces avoines ont été mises dans des conditions propres à favoriser leur altération. Un grain dans chaque tube, dans une atmosphère humide et chaude ainsi que précédemment. Un dizaine de jours après, tous les grains sont couverts en plus ou moins grande quantité de points blancs ; l'examen microscopique montre que dans tous il s'agit du *Streptothrix* des avoines moisies. Sur 50 tubes, deux fois seulement un *Penicillium* a poussé à côté du *Streptothrix*. La conclusion qui s'impose est donc la suivante : Toutes les avoines sont souillées à l'état normal par un *Streptothrix*, qui se développe et les altère lorsque ces avoines se trouvent soumises à certaines conditions de chaleur et d'humidité ; elles prennent alors l'odeur de moisi.

Du fait que ce *Streptothrix* se trouve si répandu dans la nature, on conçoit que, contrairement à ce qu'on aurait pu présumer, il soit la cause à peu près exclusive de l'avarie des avoines moisies.

Digitized by Google

Le *Streptothrix* des avoines moisies peut il être identifié à l'un des *Streptothrix* connus ? Si l'on prend les caractères des *Streptothrix* décrits, on trouve les différences suivantes :

1° Streptothrix chromogenes (Gasperini). [**Str. nigra** (Rossi Doria). **Oospora Metschnikowi** (Sauvageau et Radais)].

Str. Chromogenes	Str. des Avoines
Largeur des filaments 0.4 μ.	Largeur des filaments 0,5 - 1 μ.
Les ramifications se rapprochent à angle aigu du filament mère.	Les ramifications sont à angle droit.
Formes d'involution.	Pas de formes d'involution.
Auréole brune sur gélatine.	Pas d'auréole brune.
Coloration brune de la gélose.	Pas de coloration brune.
Coloration brune du bouillon.	Pas de coloration brune.

2° Streptothrix Fœrsteri (Cohn)

Str. Fœrsteri	Str. des Avoines
Pousse en eau de rivière en donnant un mycélium cloisonné.	Pousse mal en eau de rivière et ne donne jamais un mycélium cloisonné.

3° Streptothrix asteroïdes (Eppinger)

Str. asteroïdes	Str. des Avoines
Ne liquifie pas la gélatine.	Liquifie la gélatine.
Colonies rouge-brique sur pomme de terre.	Colonies blanches.

4° Streptothrix Hoffmanni (Grüber)

Str. Hoffmanni	Str. des Avoines
Renflements à ses extrémités.	Pas de renflements.
Pousse bien en anaérobie.	Ne pousse pas en anaérobie.
Ne pousse pas sur gélatine et pomme de terre.	Pousse sur gélatine et pomme de terre.

5° Streptothrix actinomyces

Str. actinomyces	Str. des Avoines
Pousse bien en anaérobie.	Ne pousse pas en anaérobie.
Cultures parfois jaune citron.	Cultures blanches.

Digitized by Google

6° Streptothrix Madurae (Vincent)

STR. MADURAE	STR. DES AVOINES
Ne liquifie pas la gélatine. Ne colore pas la pomme de terre.	Liquifie la gélatine. Colore la pomme de terre.

7° Streptothrix farcinica (Nocard)

STR. FARCINICA	STR. DES AVOINES
Epaisseur des filaments 0,25 μ. Colonies gris-jaunâtre sur pomme de terre.	Épaisseur 0,5 à 1 μ. Colonies blanches sur pomme de terre.

8° Streptothrix caprae (Zschokke et Sieberschmidt)

STR. CAPRAE	STR. DES AVOINES
Ne liquéfie pas la gélatine. Colonies brunâtres sur gélose. Culture brun rosé sur pomme de terre.	Liquéfie la gélatine. Colonies blanchâtres sur gélose. Culture blanche sur pomme de terre.

9° Streptothrix violacea (Rossi-Doria)

STR. VIOLACEA	STR. DES AVOINES
Gélose devient brune ou rousse. Pellicule violacée sur pomme de terre.	Gélose ne se teinte pas. Culture blanche sur pomme de terre.

10° Streptothrix carnea (Rossi-Doria)

STR. CARNEA	STR. DES AVOINES
Culture rouge orange sur gélose et sur pomme de terre.	Cultures blanches sur gélose et pomme de terre.

11° Streptothrix aurantiaca (Rossi-Doria)

STR. AURANTIACA	STR. DES AVOINES
Ne liquéfie pas la gélatine. Colonies orange sur gélose et sur pomme de terre.	Liquéfie la gélatine. Colonies blanches sur gélose et sur pomme de terre.

Digitized by Google

12° Streptothrix rubra (Ruiz Cazabo)

Str. rubra	Str. des Avoines
Culture rouge cinabre sur gélose et sur pomme de terre.	Cultures blanches sur gélose et sur pomme de terre.

13° Streptothrix albidoflava (Rossi-Doria)

Str. albidoflava	Str. des Avoines
Culture jaune sur gélose et pomme de terre.	Cultures blanches sur gélose et sur pomme de terre.

14° Streptothrix invulnerabilis (Acosta et Grande-Rossi)

Str. invulnerabilis	Str. des Avoines
Coloration jaune de la pellicule sur gélose.	Coloration blanche.

15° Streptothrix mordoré (Thiry)

Str. mordoré	Str. des Avoines
Culture sur gélose mordorée, jaune, brun, violette.	Culture blanche sur gélose.
Culture gris rosé sur pomme de terre.	Culture blanche sur pomme de terre.

L'étude complète des *Streptothrix* en général, de leurs rapports entre eux, des influences de milieu, des diverses causes qui peuvent modifier les cultures ou leur morphologie, n'étant pas faite, on ne peut légitimement rattacher ce *Streptothrix* des avoines moisies, à une espèce actuellement connue. L'espèce dont il se rapproche le plus est le *Streptothrix Foersteri*, sans qu'on puisse cependant les identifier. — Je propose de considérer le *Streptothrix* des avoines comme une espèce autonome et de le désigner sous le nom de *Streptothrix Dassonvillei*, en témoignage d'amitié pour M. le vétérinaire en premier Dassonville qui m'a donné l'idée de cette étude et dont les conseils m'ont été si précieux au cours de ces recherches.

Digitized by Google

III. — CONSÉQUENCES PRATIQUES DE CETTE ÉTUDE

Le problème intéressant pour l'agriculture est le suivant :

I. — Assurer la conservation de l'avoine, en tant que denrée alimentaire.

II. — Rendre consommable l'avoine moisie.

I. — Assurer la conservation de l'avoine

Pour assurer cette conservation il faut :

1°. — *Limiter, autant que possible, la contamination naturelle par le Streptothrix.*

Le parasite se trouvant sur toutes les avoines, même en apparence saines, il est vraisemblable qu'il existe en grande abondance dans le sol. Il y aurait, par conséquent, intérêt à diminuer autant que possible la durée du dépôt des gerbes sur la terre, au moment de la moisson. Notons que dans les pays où l'avoine est fréquemment avariée (la Bretagne par exemple) on a l'habitude de laisser longtemps les gerbes sur le sol.

En outre, le mélange des avoines avariés aux avoines saines, mesure fréquemment employé dans le commerce, a pour conséquence de contaminer ces dernières.

Il y a donc lieu d'éviter de tels mélanges.

2°. — *Mettre les avoines dans les conditions les plus défavorables au développement du Streptothrix.*

Nous avons vu, plus haut, que le parasite était détruit à des températures assez basses. On pourrait donc utiliser cette notion, en vue de la conservation des avoines.

S'il est possible, avant de les emmagasiner, de tuer le parasite ou de diminuer sa vitalité, on assurera une durée de conservation beaucoup plus longue.

Un étuvage pratiqué dans de certaines conditions paraît susceptible de donner des résultats favorables.

II. — Rendre consommable l'avoine moisie.

En portant à 80° pendant une demi-heure les avoines avariées, j'ai constaté que ces avoines perdent complètement leur odeur.

Digitized by Google

On conçoit que cette notion soit susceptible d'une application pratique.

Les conditions matérielles à réaliser feront l'objet de recherches ultérieures.

EXPLICATION DE LA PLANCHE 17

Figure 1. — Touffe provenant d'une culture sur gélose.

Fig. 2 et 6 { *a.* — Filaments et formes bacillaires libres.
b. — Formes bacillaires en place.

Fig. 3 et 4. — Formes de fragmentation.

Fig. 5 — Touffe provenant d'une culture en bouillon.

Fig. 7 et 9. — Formes de dégénérescence.

c. — A deux rangs de granulations.
d. — A un seul rang de granulation.

Fig. 8 — Forme oospora.

Grossissements. — Microscope Stiasnie, objectif 1 1/2 et oculaire 1, sauf pour *b*, fig. 2 et 6 (oc. 12), fig. 3 et 4 (oc. 12) et fig. 8 (oc. 6).

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES VERTES

A L'AIDE DE MATIÈRES ORGANIQUES

par M. J. LAURENT (*Suite*).

Chapitre III

QUELQUES APPLICATIONS A L'AGRICULTURE

Il résulte des recherches exposées dans les deux chapitres précédents que la pression osmotique des liqueurs de culture, abstraction faite de la nature spécifique des substances dissoutes, fait varier :

1° La croissance en longueur et en épaisseur de la plante ;
2° La proportion d'eau ;
3° Le poids sec total ;
4° La composition chimique du suc cellulaire ;
5° Enfin la structure et la différenciation des tissus.

De plus il est vraisemblable qu'il existe pour chaque substance soluble non toxique, comme je l'ai établi pour le glucose, un optimum de pression osmotique convenant le mieux pour une plante donnée, à une époque déterminée de sa végétation.

L'agriculture doit s'efforcer de fournir aux plantes cultivées, non seulement les douze à quatorze éléments qui entrent dans leur composition chimique normale : carbone, hydrogène, oxygène, azote, soufre, phosphore, chlore, potassium, calcium, magnésium, fer, etc. ; mais ces éléments devront leur être apportés sous une forme assimilable et *à une concentration déterminée*. Bien mieux, il pourra exister dans le sol des substances solubles inutiles à la

Digitized by Google

plante pour sa nutrition directe et qui exerceront néanmoins une action réelle sur la croissance en augmentant la pression osmotique des liquides qui imprègnent le sol.

Je considère en effet que malgré l'action spéciale exercée par l'argile et l'humus qui se comportent dans les terres cultivées à peu près à la façon d'une étoffe dans un bain de teinture, on peut dans une certaine mesure assimiler les cultures dans le sol à des cultures en milieux liquides, et qu'en mettant à part la pénétration plus ou moins facile de l'oxygène et les réactions réciproques de l'eau et du sol, on peut admettre que les phénomènes de la végétation vont s'accomplir sensiblement de la même manière dans les deux cas.

Or la pression osmotique des liquides du sol est constamment variable non seulement d'une terre à une autre, mais d'un instant à l'autre pour une même terre. Elle dépend en effet :

1° De la quantité d'eau tombée et surtout du mode de distribution des chutes de pluie ;

2° Du pouvoir d'imbibition du sol qui lui permet de retenir des quantités d'eau plus ou moins grandes selon les proportions relatives de sable, de calcaire, d'argile et d'humus qu'il contient;

3° De l'activité des microorganismes qui peuvent exercer une action digestive à distance sur les débris des végétations antérieures ;

4° De la proportion totale de matières solubles soit dans l'eau pure, soit dans l'eau chargée de gaz carbonique contenues naturellement dans le sol ou apportées par les engrais.

En augmentant le pouvoir d'imbibition du sol, en donnant par sa combustion lente des proportions considérables de gaz carbonique, enfin en facilitant comme l'a montré Grandeau la solubilisation des substances minérales, l'humus rend moins variable la concentration du liquide qui imprègne la terre et accroît dans des proportions notables son pouvoir osmotique ; à ce point de vue son influence sur la végétation est peut-être aussi importante que comme aliment.

On sait combien sont insuffisantes pour la pratique agricole les données fournies par l'analyse chimique des terres, la proportion totale d'azote, d'acide phosphorique et de potasse étant loin de fournir une appréciation exacte de la quantité réellement soluble et utilisable de chacune de ces substances; aussi la détermination

Digitized by Google

des formules d'engrais qui conviennent à tel ou tel sol, bien connue cependant par une analyse chimique, reste-t-elle très-incertaine ; il suffit de consulter à cet égard les chiffres indiqués par les agronomes les plus autorisés pour se rendre compte, par les différences qu'il présentent, de l'incertitude des données théoriques. Aussi je proposerai de compléter l'analyse chimique des terres par une *analyse physiologique*, par la détermination du pouvoir osmotique des liquides du sol, à différentes époques de l'année, et après l'application de divers engrais.

Quelques essais sur trois sols différents m'ont donné des chiffres qui sont bien en rapport avec leur degré de fertilité. Les échantillons ont été prélevés le 10 mai 1902 avec toutes les précautions usitées en pareil cas et j'ai opéré ainsi sur du terreau, de la tourbe, et enfin sur un sol crayeux qui était resté sans culture depuis une quinzaine d'années, puis qui avait reçu 30.000 kgr. de fumier à l'hectare au printemps de 1901 et la même dose à l'automne.

L'analyse est faite sitôt après la prise d'échantillon, j'en indiquerai rapidement la marche générale.

25 grammes de terre sont desséchés à l'étuve ; la perte de poids indique la quantité d'eau qui s'y trouve contenue ; 500 gr. du même échantillon sont additionnés de 250 à 400 cmc. d'eau distillée ; le mélange bien délayé est porté à l'ébullition pendant une demi-heure puis jeté sur un filtre ; on recueille le liquide clair et on l'utilise après addition d'azotate de potassium pour provoquer la plasmolyse de lambeaux d'épiderme prélevés sur la face supérieure du pétiole de *Rumex sanguineus*. Les cellules à suc cellulaire coloré en rouge vif se prêtent particulièrement bien aux recherches de ce genre.

Alors qu'une solution de 0,28 Pm. AzO^3K dans l'eau distillée détermine un début de plasmolyse dans la plupart des cellules, il suffit de 0,265 Pm. AzO^3K dans l'extrait aqueux de tourbe pour produire le même effet, de 0,270 pour la terre crayeuse et 0,260 pour le terreau.

En tenant compte de la quantité d'eau distillée ajoutée à l'échantillon de terre, le calcul montre que les liquides du sol sont respectivement isotoniques de solutions de salpêtre renfermant par litre :

6 gr. 49 AzO^3K pour le terreau,
3 gr. 99 — — la terre crayeuse,
3 gr. 40 — — la tourbe.

Digitized by Google

En répétant ces analyses à diverses époques on pourra vraisemblablement, malgré l'opinion de Schlœsing (1), qui considère comme invariable le titre des solutions d'acide phosphorique et de potasse qui imprègnent le sol, suivre l'accroissement du pouvoir osmotique pendant les périodes de sécheresse, sa diminution subite et considérable après une forte pluie et étudier pas à pas les influences auxquelles la plante se trouve réellement soumise aux diverses phases de la végétation.

Pendant la sécheresse, la plante réagit à la concentration du milieu en modifiant la composition du suc cellulaire ; la tige et la racine ralentissent leur croissance en longueur et s'épaississent davantage ; selon la nature des substances actives, une quantité plus ou moins grande de réserves s'accumule dans les tissus.

Dès que la pluie intervient, l'eau pénètre en plus forte proportion dans le corps du végétal, il y a turgescence des cellules ; la croissance en longueur devient plus rapide ; peut-être y a-t-il digestion plus active des réserves et ces alternatives de solutions étendues et concentrées sont favorables au développement général de la plante comme on peut s'en assurer facilement par des cultures en milieux liquides. Detmer (2) recommande, en effet, pour obtenir des pieds vigoureux de Maïs, de retirer de temps en temps les plantes des solutions minérales pour les placer pendant quelques jours dans l'eau distillée.

Si le sol renferme en excès des substances telles que les nitrates, qui sont facilement entraînées par les eaux d'infiltration, la pression osmotique, malgré une nouvelle période de sécheresse, ne remonte pas à sa valeur primitive ; la transpiration diminue la turgescence ; les tissus deviennent moins rigides, les céréales versent, autant peut-être par un défaut de turgescence que par une lignification moins avancée, car le phénomène ne se produit pas dans les années sèches.

Et comme la réaction osmotique est variable avec la nature des substances dissoutes, la composition chimique et par suite la qualité des produits agricoles dépendra des engrais employés. Enfin les solutions concentrées augmentant la proportion pour cent de

(1) Th. Schlœsing fils : *Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences*, t. 127, p. 236 et 327, et t. 130, p. 422.

(2) Detmer : *Manuel technique de physiologie végétale*. Edit. française, 1890.

Digitized by Google

matière sèche, lorsqu'il y a intérêt à obtenir des produits pauvres en eau, et c'est le cas pour la culture de la betterave à sucre, les engrais seront appliqués à forte dose sans trop s'inquiéter des besoins réels de la plante.

D'une manière générale, ces notions de pression osmotique et de réaction de la plante sont appelées à intervenir en agriculture en donnant la clef de bien des phénomènes inexpliqués jusqu'alors et que la chimie seule est impuissante à élucider, et il serait intéressant de reprendre à ce point de vue la discussion des expériences culturales les mieux conduites comme celles du Dr Vœlcker ou de Lawes et Gilbert.

Pour n'en donner qu'un seul exemple, il est facile de se rendre compte que tous les essais de Vœlcker (1) sur le rôle du sel marin dans la végétation peuvent être expliqués par la seule considération des pressions osmotiques. Les résultats obtenus par l'agronome anglais peuvent se résumer ainsi :

Dans la culture du Blé, 1° l'addition du sel marin modère la croissance de la paille et empêche la verse ;

2° Dans les sols compacts, le mélange de nitrate de soude et de sel marin donne un rendement plus élevé que le nitrate seul ;

3° Dans les mêmes sols le sel employé seul peut accroître la récolte en grain ;

Enfin en 1865, le chlorure de sodium s'est montré à dose égale plus efficace que le sulfate de potasse dans la culture des Betteraves mangolds.

Sous le climat humide de l'Angleterre et dans les sols compacts qui retiennent l'humidité, on comprend facilement que les fumures habituelles ne permettent pas aux liquides du sol d'atteindre la concentration qui donne le rendement maximum ; l'addition à fortes doses (jusque 500 kgr. à l'hectare) d'un sel à pouvoir osmotique élevé doit permettre de s'en rapprocher ; alors, comme dans mes expériences, la tige reste plus courte et devient plus épaisse, on diminue le rendement en paille, on empêche la verse. Le nitrate de soude exagère au contraire la croissance en longueur de la tige et diminue sa résistance ; l'addition de chlorure de sodium corrige ces inconvénients.

(1) A. Ronna : *Travaux et expériences du Dr A. Vœlcker*, t. II, p. 12 et suiv. Paris, 1888.

Digitized by Google

Les résultats donnés par la Betterave paraissent encore plus extraordinaires au point de vue exclusivement chimique, puisque la Betterave d'après l'analyse de ses cendres est une plante à dominante de potasse alors que la soude n'entre dans sa composition que pour une part insignifiante. Mais comme chez toutes les plantes tuberculeuses, la pression osmotique interne est plus élevée et le milieu extérieur doit être plus concentré que pour les autres cultures ; précisément 58 gr.5 de sel marin équivalent, au point de vue osmotique, à 126 gr. de sulfate de potasse ; on comprend ainsi que 500 kgr. de chlorure de sodium exercent une action plus efficace pour la culture de la Betterave que 500 kgr. de sels de Stassfurt.

Lorsqu'on connaîtra, pour chaque culture en particulier, la pression osmotique interne des pieds qui ont présenté le maximum de développement ; lorsqu'on sera parvenu, par l'addition de certaines doses d'engrais dont la nature sera indiquée par l'analyse chimique de la terre et par celle de la plante à réaliser dans le sol une concentration déterminée des liquides qui l'imprègnent, on pourra donc espérer se rapprocher, dans les limites que permettent les variations climatériques, du maximum de rendement compatible avec telle ou telle espèce végétale.

Les observations précédentes suffisent à montrer que le problème de la production maximum en agriculture ne comporte pas une solution simple et uniforme. La formule d'engrais qui assure le meilleur rendement sera variable avec chaque culture, avec chaque climat, avec chaque catégorie de sols, et à côté du facteur chimique, il sera nécessaire de faire intervenir au moins un facteur physiologique, la pression osmotique.

Conclusions de la seconde partie.

Les matières organiques étudiées, glucose, saccharose, glycérine, ne modifient ni l'aspect extérieur, ni les caractères anatomiques de la plante toutes les fois qu'on les emploie en solutions étendues. C'est que par leur nature même elles sont identiques aux produits de digestion des réserves de la graine ou aux substances dont la fonction chlorophyllienne provoque la synthèse. Elles n'apportent donc pas de produits nouveaux dans le corps de la plante, mais elles augmentent simplement le nombre des molécules actives, et leur

Digitized by Google

intervention se traduit uniquement par une croissance un peu plus rapide; aussi il faut atteindre des concentrations assez élevées, 3 à 4 pour cent de glycérine, 5 à 6 pour cent de glucose pour provoquer une réaction bien appréciable du végétal. Dès lors il importe de distinguer dans l'action des solutions organiques concentrées, d'une part l'influence de la pression osmotique, et d'autre part l'action spécifique de la substance étudiée.

1° Quelle que soit la nature de la matière dissoute, les liqueurs concentrées provoquent un retard dans la croissance en longueur et un épaississement plus ou moins marqué de la tige et de la racine; elles augmentent l'acidité du suc cellulaire et la proportion pour cent de matière sèche contenue dans les plantules; elles retardent la digestion des réserves de la graine; ces conclusions s'appliquent également aux solutions minérales.

2° Pour des liqueurs isotoniques, l'action spécifique de chacune des substances organiques se traduit à la fois par des différences dans l'aspect extérieur, dans la composition chimique du suc cellulaire, dans la valeur du poids sec, dans la structure anatomique.

a) L'augmentation du diamètre de la tige et de la racine est beaucoup plus marquée avec la glycérine qu'avec le glucose.

b) La proportion d'acides libres contenus dans le suc cellulaire est plus élevée sur glucose que sur glycérine.

c) Vis-à-vis des liqueurs exclusivement minérales, les solutions organiques provoquent un accroissement notable du poids sec des plantules. Dans les limites de mes expériences, le poids sec croît constamment dans les solutions de glycérine; il passe par un maximum pour les solutions de glucose isotoniques de 0,208 Pm. AzO^3K.

d) Avec les Légumineuses la glycérine augmente le diamètre des cellules, notamment pour les éléments de l'écorce; la différenciation des tissus est parfois plus tardive, l'épaisseur des membranes plus faible, la lignification moins prononcée.

Avec le glucose il y a renforcement de tous les tissus de soutien.

Dans les cultures de Maïs, où la glycérine ne peut être mise en réserve sous forme d'amidon, elle favorise comme le glucose et le saccharose l'épaississement des membranes et la lignification.

e) A l'obscurité, les solutions suffisamment concentrées de glucose ou de glycérine et mieux encore, les liqueurs dans lesquel-

Digitized by Google

les on fait intervenir à la fois des composés organiques du carbone, de l'azote et du phosphore, modifient complètement l'aspect extérieur des plantules qui prennent la forme et la structure anatomique des plantules issues de graines beaucoup plus volumineuses.

f) Enfin l'influence considérable exercée sur le développement de la plante par la concentration des solutions nutritives m'a amené à proposer l'*analyse physiologique des terres*, c'est-à-dire la détermination de la pression osmotique des liquides qui imprègnent le sol comme un procédé rapide et pratique pour compléter les renseignements insuffisants que peut procurer l'analyse chimique.

RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS.

Les recherches que j'ai entreprises sur le rôle des matières organiques dans la nutrition des plantes vertes m'ont permis d'indiquer plusieurs méthodes générales de culture des végétaux supérieurs en milieux stérilisés.

Je les ai appliquées successivement à l'étude de l'absorption du glucose par les racines et j'ai montré que cette substance intervient dans la croissance de la plante qui peut la consommer immédiatement ou la mettre en réserve sous forme d'amidon.

J'ai étendu ces résultats au sucre de canne qu'intervertissent très lentement les racines de Maïs et à la glycérine que les Légumineuses transforment plus ou moins complètement en amidon avant de l'utiliser.

Mais j'ai reconnu que les racines sont incapables de digérer au dehors les matières amylacées et que même à l'état d'empois elles ne peuvent les absorber qu'au moment de la germination, grâce aux diastases exosmosées par les graines.

Quant à l'humus, dont le rôle comme aliment a été si discuté, j'ai vérifié son absorption directe par le Maïs et établi qu'à l'état d'humate de potassium il facilite l'assimilation du carbone et se comporte ainsi à la façon d'un sel minéral.

Enfin j'ai étudié l'influence du glucose, du saccharose et de la glycérine sur la croissance, la morphologie externe et la structure anatomique de quelques Phanérogames et montré que malgré

Digitized by Google

certaines différences spécifiques, ces trois substances exercent des actions très comparables lorsque les cultures sont faites sur des solutions isotoniques.

Ces divers composés ne sont pas certainement les seuls qui puissent servir à la nutrition des plantes vertes ; malgré les essais infructueux, mais trop peu nombreux, que j'ai entrepris avec l'alcool et le tannin, il serait intéressant de rechercher si d'autres substances et particulièrement les acides organiques ou tout au moins leurs sels neutres ne pourraient pas remplir le même rôle.

Les recherches de Devaux (1) et de Mazé (2) sur la formation d'alcool dans les tissus végétaux, celles de Raulin (3) sur le rôle de l'acétate et du lactate de zinc, du lactate et du citrate de fer dans l'alimentation des Champignons laissent soupçonner tout au moins que ces divers composés pourront être utilisés par les plantes vertes.

Au reste il n'est pas nécessaire qu'une substance organique soit directement assimilable pour servir à la nutrition des végétaux supérieurs, il suffit qu'elle soit soluble, capable de pénétrer par osmose dans les racines, et que la plante renferme dans ses tissus les diastases nécessaires pour en provoquer la digestion.

Si nous appliquons aux conditions réalisées dans la nature les résultats des expériences de laboratoire, nous arrivons à reconnaître que les matières organiques du sol jouent un rôle direct dans la nutrition des végétaux. Indépendamment de l'humus, les débris laissés par les cultures antérieures renferment non seulement du glucose et du sucre de canne, mais encore de l'amidon, de la cellulose, des matières grasses, sur lesquels agissent à la fois bactéries et champignons, provoquant une digestion externe que les végétaux supérieurs ne peuvent réaliser qu'au moment de la germination. Et ainsi, malgré la concurrence active des micro-organismes, les racines pourront trouver dans le sol de petites quantités de matières organiques utilisables qui viendront concourir, dans une faible mesure il est vrai, à l'alimentation carbonée de la plante.

(1) Henri Devaux : *Asphyxie spontanée et production de l'alcool dans les tissus profonds des tiges poussant dans les conditions naturelles.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, t. 128, p 1346, 1899.

(2) Mazé : *Signification physiologique de l'alcool dans le règne végétal.* Comptes-Rendus de l'Acad. des Sciences, t. 128, p. 1608, 1899.

(3) J. Raulin : *Etudes chimiques sur la végétation.* Ann. des sc. natur., 5e série, t. XI, 1869.

Digitized by Google

Dès lors il n'y a plus lieu de considérer le mode de nutrition des plantes sans chlorophylle comme une exception dans le règne végétal : *toutes les plantes, vertes ou non, peuvent, à la façon des animaux, emprunter le carbone qui leur est nécessaire à certaines substances organiques, et exceptionnellement, chez les végétaux renfermant de la chlorophylle ou quelques autres pigments, à ce mode général d'alimentation carbonée vient s'adjoindre la décomposition du gaz carbonique sous l'influence des rayons solaires.*

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I

Fig. 1, 2, 3. — Appareils pour cultures en milieux stérilisés.

Planche II

Cultures de Pois à la lumière.

Fig. 4. — Solution Detmer.
Fig. 5. — Detmer + solution de glucose isotonique de 0,104 Pm. AzO^3K.
Fig. 6. — id. 0,156 —
Fig. 7. — id. 0,208 —
Fig. 8. — id. 0,260 —
Fig. 9. — id. 0,312 —

Planche III

Fig. 10, 11, 12. — *Cultures de Pois à la lumière sur glycérine.*
Fig. 10. — Detmer + solution de glycérine isotonique de 0,104 Pm. AzO^3K
Fig. 11. — id. 0,208 —
Fig 12. — id. 0,312 —
Fig. 13, 14, 15, 16. — *Cultures de Pois à l'obscurité.*
Fig. 13. — Petites graines ensemencées sur la liqueur Detmer.
Fig. 14. — Petites graines ensemencées sur Detmer + 4 °/. de glucose.
Fig. 15. — id. + 4 °/. de glycérine.
Fig. 16. — Grosses graines ensemencées sur liqueur Detmer.

Planche IV

Fig. 17. — *Pois* sur liqueur Detmer. Coupe transversale pratiquée à la base de la racine ; portion du cylindre central.

Fig. 18. — *Pois* sur Detmer + NaCl en solution isotonique de 0,156 Pm. AzO^3K. Coupe transversale à la base de la racine ; cloisonnement du péricycle, *p*.

Fig. 19. — *Pois* sur Detmer + 0,156 Pm. AzO^3K. Coupe transversale à la base de la racine ; portion du cylindre central.

Digitized by Google

PLANCHE V

Fig. 20. — *Pois* sur Detmer + glycérine en solution isotonique de 0,312 Pm. AzO^3K. Coupe transversale pratiquée à la base de la racine; portion du cylindre central.

Fig. 21. — *Pois* sur Detmer + glucose en solution isotonique de 0,312 Pm. AzO^3K. Coupe transversale à la base de la racine; portion du cylindre central.

PLANCHE VI

Cultures de Pois à l'obscurité.

Fig. 22, 23, 24 et 25. — Coupes transversales dans la portion moyenne du premier entre-nœud de la tige.

Fig. 22. — Petites graines ensemencées sur solution Detmer + glycérine 4 °/₀.

Fig. 23. — Petites graines ensemencées sur solution Detmer + glucose 4 °/₀.

Fig. 24. — Petites graines ensemencées sur solution Detmer seule.

Fig. 25. — Grosses graines ensemencées sur solution Detmer seule.

Fig. 26, 27, 28 et 29. — Mêmes coupes que les précédentes; portion de l'écorce avec un faisceau foliaire.

Fig. 26. — Glycérine 4 °/₀.

Fig. 27. — Glucose 4 °/₀.

Fig. 28. — Petites graines sur liqueur Detmer.

Fig. 29. — Grosses graines sur liqueur Detmer.

Fig. 30 et 31. — Mêmes coupes que les précédentes; un faisceau libéro-ligneux du premier entrenœud de la tige.

Fig. 30. — Glycérine 4 °/₀.

Fig. 31. — Petites graines sur liqueur Detmer.

PLANCHE VII

Fig. 32, 33, 34. — Cultures de *Lentille* à la lumière; coupe transversale pratiquée dans la portion moyenne du premier entrenœud de la tige.

Fig. 32. — Solution Detmer + glycérine 5 °/₀.

Fig. 33. — Solution Detmer + glucose 5 °/₀.

Fig. 34. — Solution Detmer seule.

Fig. 35 et 36. — Cultures de *Maïs* à l'obscurité; coupes transversales pratiquées à la base de la racine; portion du cylindre central.

Fig. 35. — Solution Detmer seule.

Fig. 36. — Solution Detmer + glycérine 4 °/₀.

LETTRES COMMUNES A TOUTES LES FIGURES

ep, épiderme; *ec*, écorce; *ff*, faisceau foliaire; *fscl*, faisceau de sclérenchyme; *end*, endoderme; *p*, péricycle; *lib*, liber; *ag*, assise génératrice libéro-ligneuse; *scl*, sclérenchyme; *bp*, bois primaire; *bs*, bois secondaire; *m*, moelle.

Digitized by Google

INFLUENCE

DE LA

CULTURE EN SERRE

SUR QUELQUES PLANTES DES ENVIRONS DE PARIS

par J. BÉDÉLIAN *(Suite)*.

(Planches 10 à 13).

II. — STRUCTURE DU LIMBE DE LA FEUILLE.

1. — **Plantago lanceolata** L.

1° *Culture en plein air.*

Une section transversale d'une feuille assez développée de *Plantago lanceolata*, faite dans une partie inférieure, présente cinq faisceaux libéroligneux principaux et d'autres plus petits intercalés entre les précédents. Ces faisceaux sont plongés dans un parenchyme qui est plus développé sur la face supérieure de la feuille.

La coupe transversale du faisceau libéroligneux médian (fig. 10, pl. 11) a la forme elliptique un peu pointue vers la face supérieure. L'ensemble du bois forme un arc et les vaisseaux sont disposés radialement. Le nombre des vaisseaux d'une même file va en diminuant de la partie médiane vers les côtés. Les parois des vaisseaux ont environ une épaisseur de 3 μ.

Le liber est disposé en arc au dos du bois; beaucoup de ses cellules ont une coupe pentagonale. Le nombre des assises du liber est de 5 à 6. Les parois de ses cellules sont minces et ont une épaisseur d'environ 1 μ.

Autour du bois et du liber il y a un anneau scléreux presque complet et épais surtout du côté dorsal. L'épaisseur des parois

Digitized by Google

cellulaires est de 3 à 4 μ. Cet anneau présente une petite interruption sur les flancs du faisceau où le liber arrive jusqu'à une assise de larges cellules.

Tous les tissus que nous venons de décrire sont entourés d'une assise de cellules à parois minces, formant sur la coupe un anneau régulier. Autour vient le parenchyme général à cellules arrondies de 18 μ environ de diamètre, laissant entre elles de petits méats.

L'épiderme est formé de cellules assez petites, à cuticule épaisse surtout sur les parois internes et externes. Dans les régions situées en face des grandes nervures, il y a au-dessous de l'épiderme de 3 à 4 assises de petites cellules de collenchyme tandis que dans les parties intermédiaires il y a une seule rangée de petites cellules.

Sur le bord de la feuille les cellules épidermiques sont particulièrement petites, elles ont leurs parois très épaisses et au-dessous il y a un paquet de collenchyme. Les cellules épidermiques de la face supérieure de la feuille sont à peu près égales entre elles, et ont leurs parois un peu plus épaisses que celles des cellules du parenchyme sous-jacent.

Le parenchyme général de la feuille est presque homogène, constitué par des cellules arrondies et laissant entre elles des méats. C'est seulement en se rapprochant du bord que l'on aperçoit, à la face supérieure, des cellules à peu près deux fois plus longues que larges, représentant le tissu en palissade.

2° *Culture en serre.*

La feuille d'un plant de *Plantago lanceolata* cultivé dans la serre est beaucoup plus large que la feuille précédente. Aussi, le nombre des grands faisceaux comme celui des petits faisceaux intermédiaires est-il plus considérable.

Les vaisseaux du bois forment un arc plus étalé mais moins épais que dans la plante précédente. Chaque file de vaisseaux n'en comprend que 2 ou 3 au lieu de 5 à 7 pour les files situées vers le milieu de l'arc. Au total, il y a moins de vaisseaux chez la plante de la serre.

Sur les côtés du bois il y a, comparativement à la plante précédente, un plus grand nombre de cellules purement parenchymateuses pour séparer la partie scléreuse qui est au dos du faisceau de celle qui est située du côté ventral.

Digitized by Google

Dans la partie du faisceau située dans la concavité de l'arc des vaisseaux du bois, il y a des cellules parenchymateuses à parois minces, des cellules à parois épaisses non lignifiées et de petits paquets libériens tandis que dans la plante de plein air toute la partie du faisceau située au dessus des vaisseaux du bois est formée de cellules à parois épaisses.

Autour du faisceau proprement dit il y a non seulement une seule assise de cellules en anneau (*e*, fig. 12 et 12bis, pl. 11), mais *plusieurs autres* (*e'*, *e''*, *e'''*, etc.), *disposées très régulièrement et dans le sens tangentiel et dans le sens radial*. Le nombre de ces assises est plus grand sur la face supérieure de la feuille que sur la face inférieure.

Le parenchyme général a des cellules de forme beaucoup plus irrégulière que dans la plante précédente et laissant entre elles de bien plus grands méats (fig. 12 et 12bis, pl. 11). Le caractère palissadique n'existe pas.

L'épiderme inférieur est formé de petites cellules à parois épaisses, mais le collenchyme est beaucoup moins développé que dans l'autre plante. Seule l'assise sous épidermique présente le caractère de collenchyme ; c'est tout au plus si çà et là en face des faisceaux, l'assise suivante possède des cellules à parois plus épaisses. L'épiderme supérieur a ses parois assez minces, même la paroi externe.

En résumé, chez le *Plantago lanceolata* de la serre, comparé à celui qui a vécu en plein air, le bois est plus étalé et comprend moins de cellules dans chaque file radiale ; le sclérenchyme dorsal ou ventral a des parois moins épaisses ; il y a du côté supérieur de la feuille des paquets libériens tandis que, dans la feuille poussée en plein air, toute la partie ventrale du faisceau est formée des fibres. Autour du faisceau, il y a un plus grand nombre d'assises cellulaires disposées en cercle. Le nombre de ces assises est plus grand sur la face supérieure.

2. — Plantago media L.

1° *Culture en plein air.*

Chez une feuille de *Plantago media*, cultivée dans les conditions naturelles, on voit dans une section transversale, que la nervure

Digitized by Google

médiane est très accentuée et présente une petite gouttière du côté ventral. Il y a un faisceau médian unique et une série d'autres petits faisceaux. Dans le faisceau médian (fig. 11, pl. 11), le bois présente la forme d'un arc, concave du côté ventral ; les vaisseaux sont disposés en files radiales, séparées les unes des autres d'une façon plus ou moins régulière par de petites cellules parenchymateuses. Le liber s'étend jusqu'aux pointes de l'arc formé par le bois. Il y a ensuite au dos du liber un arc de fibre à parois épaisses non lignifiées ; en outre la concavité de l'arc du bois est occupé par des fibres semblables. Tout cet ensemble est entouré d'un anneau de cellules présentant une ou deux assises du côté ventral et trois du côté dorsal (*e*, *e' e''*, fig. 11, pl. 11) ; le reste de la nervure est formé par un parenchyme général à cellules rondes laissant entre elles de petits méats.

Nous pouvons ainsi remarquer que la coupe de la nervure du *Plantago media* cultivé en plein air (fig. 11) ressemble à celle de la nervure du *Plantago lanceolata* cultivé en serre (fig. 12[i s]); nous reviendrons plus loin sur ce fait important.

En face du faisceau, l'épiderme inférieur a une cuticule épaisse, et le collenchyme sous-épidermique présente de trois à quatre assises de cellules, juste en face du faisceau, et seulement deux, puis une seule à mesure qu'on s'éloigne du faisceau dans un sens ou dans l'autre. L'épiderme supérieur a ses cellules plus grandes que l'épiderme inférieur. Dans les parties situées entre les faisceaux on distingue à la face supérieure de la feuille de 4 à 5 assises de cellules, un peu plus hautes que larges ; c'est ce qui représente le parenchyme en palissade.

Le parenchyme lacuneux est constitué par un nombre à peu près égal d'assises de cellules arrondies ou même allongées parallèlement au plan du limbe.

2° *Culture en serre.*

Dans la feuille de *Plantago media* cultivé en serre, la nervure médiane est aussi très accentuée et fait fortement saillie du côté dorsal.

La gouttière de la face ventrale est moins accentuée. Le bois forme aussi un arc où les vaisseaux sont disposés par files, mais la lignification est moins avancée.

Digitized by Google

Le liber est disposé comme dans le cas précédent, mais le sclérenchyme, aussi bien celui qui est au dos du liber que celui qui est dans la concavité du bois, a des membranes moins épaisses que chez les échantillons en plein air. Autour du faisceau il y a des cellules assez petites, disposées en anneau comme dans le cas précédent. Du côté ventral il existe de deux à quatre assises de telles cellules et du côté dorsal il y en a une seule bien régulière, et une seconde moins régulière.

Le collenchyme sous-épidermique situé en face des faisceaux est sensiblement disposé comme dans le cas précédent. Le parenchyme en palissade n'est pas bien différencié, et même les assises les plus rapprochées de l'épiderme supérieur sont formées de cellules arrondies.

Chez un exemplaire moyen d'une plante poussant en plein air dans les conditions ordinaires on trouve entre les deux assises épidermiques huit assises parenchymateuses.

Les trois premières du côté de la face supérieure présentent le caractère de cellules en palissades, assez large par rapport à leur longueur ; çà et là même, surtout dans les régions les plus écartées du faisceau, la troisième assise a des cellules à peu près isodiamétriques.

Les cinq autres assises de cellules peuvent être considérées comme constituant le parenchyme lacuneux ; elles sont à peu près aussi longues que larges ; les deux dernières, les plus voisines de l'épiderme inférieur, sont même un peu allongées dans le sens parallèle au limbe. Ajoutons que les lacunes de ce tissu ne sont pas extrêmement développées.

L'épiderme supérieur, vu de face, apparaît comme formé de cellules à parois un peu ondulées et de forme assez irrégulière, de dimensions sensiblement égales dans tous les sens.

Dans la plante de serre, les parois sont beaucoup plus ondulées, les cellules de taille plus grande, très souvent plus allongées dans un sens que dans l'autre.

Par une coupe perpendiculaire au limbe on constate qu'en plein air les parois externes sont bombées et possèdent une cuticule assez épaisse, tandis que dans la serre les parois externes sont plus rectilignes et moins cuticularisées.

Digitized by Google

Quant à l'épiderme inférieur il a ses parois ondulées chez une plante comme chez l'autre, mais dans la serre elles le sont davantage et les cellules y sont plus allongées.

Chez la plante, cultivée dans la serre, l'épaisseur totale du limbe est moindre quoique les deux plantes comparées aient été mises en culture en même temps. Ce limbe ne présente que six assises de cellules et l'on n'y distingue pas de différenciation en tissu palissadiforme et tissu lacuneux. Toutes les cellules se présentent en coupe comme à peu près carrées ou un peu arrondies ; les méats n'ont pas un volume très considérable.

En résumé, les différences entre la plante de la serre et la plante du plein air sont moins accentuées que chez le *Plantago lanceolata*, car même, pour la plante de plein air, on trouve autour du faisceau cette disposition de petites cellules groupées en un anneau qui pour le *Plantago lanceolata* n'existe que chez la plante cultivée en serre.

3. — **Achillea Millefolium** L.

1° *Culture en plein air.*

La section transversale d'une feuille, coupée dans une partie très étroite correspondante à peu près à une nervure médiane, présente un faisceau médian et de chaque côté de ce faisceau deux autres plus petits.

Le faisceau médian a une forme sensiblement circulaire, le bois y forme un arc où les vaisseaux sont disposés en files radiales. Au dos du liber et du côté concave du bois il y a des paquets de fibres à lumière assez large et à parois peu épaisses non lignifiées. Autour du faisceau il y a plusieurs assises de cellules affectant la disposition en anneau.

Sur la face dorsale de la feuille, en dehors des faisceaux, les cellules de l'assise sous-épidermique sont petites et ont des parois épaisses. Dans les régions de l'épiderme qui correspondent à l'intervalle des faisceaux, les cellules sont plus grandes et ont des parois plus minces. Le parenchyme général de la nervure est très lacuneux surtout du côté supérieur de la feuille.

Dans les parties purement parenchymateuses, il y a sur chaque face de la feuille un tissu palissadique très peu serré, composé géné-

Digitized by Google

ralement de deux assises de cellules, et au milieu une ou deux assises de cellules très allongées dans le sens parallèle au plan du limbe.

2° *Culture en serre.*

Comparée à la plante précédente, celle qui a poussé en serre a moins de vaisseaux.

Le liber a ses cellules les plus petites, en coupe transversale; les fibres dorsales et ventrales ont encore leurs parois moins épaisses ; la disposition en anneau autour du bois n'est bien régulière que pour une seule assise de cellules. La deuxième assise est déjà à cellules beaucoup plus grandes et moins régulièrement disposées en anneau ; l'assise sous-épidermique du côté dorsal a ses caractères moins accentués en face du faisceau que dans le cas précédent ; les cellules y sont un peu plus grandes et les parois moins épaisses.

Quant au limbe, il présente au-dessous de l'épiderme supérieur des cellules à peu près semblables à celles qui dans la plante cultivée en plein air occupent la même situation ; puis il y a encore les cellules prolongées parallèlement au limbe ; et enfin les assises de la face inférieure ont leurs cellules également plus allongées dans le sens du limbe.

On voit qu'entre les deux types de feuilles les différences sont analogues à celles signalées dans les plantes décrites précédemment.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Atkinson (1) considère comme réductrice la première division des cellules mères polliniques chez *Arysæma triphyllum* (Aroïdée). Les chromosomes se coupent transversalement aussitôt après s'être fendus en long. Des cas analogues ont été signalés chez les Annélides par Korschelt. Chez *Trillium grandiflorum* (Liliacée), c'est la deuxième mitose qui est réductrice. Les chromosomes au début de la deuxième division sont semblables à ceux de l'anaphase de la première, ce qui laisse supposer que ce sont les mêmes ; ils se coupent par le travers.

Selon Dixon (2), dans le Lis, la première division est équationnelle, la seconde réductionnelle.

Andrews (3) émet une autre opinion à propos du développement du pollen chez *Magnolia* et *Liriodendron*. A la première division, il n'y a pas de stade de spirème. Les chromosomes apparaissent comme des masses irrégulières, ils prennent ensuite la forme d'un U, parfois d'un O, et se divisent longitudinalement. Les chromosomes perdent leur individualité durant la reconstruction des noyaux-fils et, comme ces derniers passent par une phase de repos, il est bien difficile de dire que ce sont les mêmes qui s'isolent de nouveau à la seconde mitose. Les nouveaux chromosomes proviennent de la segmentation d'un spirème irrégulier. Ce sont des corps de forme variée, qui prennent ensuite l'aspect d'un U ou d'un O. Il n'est donc pas possible ici de donner une preuve positive de la réduction réelle.

C'est là aussi l'opinion de Ernst (l. c.). Dès que la substance chromatique de la cellule mère pollinique s'est disposée en un filament, celui-ci acquiert une fissure longitudinale et se segmente en chromosomes (12 au lieu de 24 chez *Paris*, 6 au lieu de 12 chez *Trillium*). Les chromosomes se rassemblent en un même point près de la surface du noyau (stade synapsis). Le nucléole n'est pas expulsé du noyau, mais se résorbe sur place. Au stade de la plaque équatoriale, apparaît dans chaque chromosome une deuxième fente en long (chez *Paris*). Dans les

(1) Atkinson : *Studies on reduction in plants* (Bot. Gaz., t. 28, 1899).

(2) Dixon : *On the first mitosis of the spore mother cells of Lilium* (Notes bot. School Trinity Coll. Dublin, 1901).

(3) Andrews : *Karyokinesis in Magnolia and Liriodendron. with special reference to the behavior of the chromosomes* (Beih. Bot. Centralbl., t. 11. 1902).

Digitized by Google

noyaux-fils, les chromosomes se soudent en un filament dans lequel on ne distingue rien de particulier. Au début de la prophase de la seconde mitose se forme une nouvelle fente longitudinale. Les chromosomes et la fente correspondent-ils à ceux de la première mitose, c'est ce qu'on ne saurait affirmer. La deuxième divison est homoeotique, à chromosomes rectilignes.

La première division réductrice est accompagnée ou précédée chez beaucoup d'animaux et de plantes d'états particuliers du noyau, décrits avec soin, antérieurement à 1897, par Moore, Rosen, etc. (synapsis, dolichonema et autres). Cependant comme on a constaté qu'au stade synapsis, le nucléole est souvent expulsé du noyau (Farmer, Belajeff, Zimmermann, Guignard, Strasburger), Mottier (l. c.) a émis l'opinion que ce prétendu stade pourrait bien n'être qu'un résultat des procédés de fixation. Un certain nombre d'auteurs y attachent au contraire une grande importance et le considèrent avec Moore comme une préparation à la diminution de moitié du nombre de chromosomes. Dixon (1) s'appuie en grande partie sur l'existence des stades dolichonema et synapsis pour essayer d'établir le rôle considérable du nucléole dans la transmission des caractères héréditaires.

Strasburger (2) examine longuement tous les cas connus de la division en tétrade et discute l'opinion des auteurs. Il appelle *atypiques* les deux premières caryokinèses à nombre de chromosomes réduit pour les distinguer des divisions habituelles ou *typiques*. Belajeff avait proposé les expressions : divisions reproductrices, divisions végétatives. Mais aux mitoses exceptionnelles succèdent dans les éléments reproducteurs des mitoses identiques (au nombre de chromosomes près) à celles des tissus végétatifs. La terminologie de Strasburger est préférable.

Les auteurs sont à peu près unanimes à qualifier d'*hétérotypique* la première mitose exceptionnelle. C'est Belajeff qui a le premier employé ce mot emprunté aux descriptions des mitoses animales par Flemming, bien que cette division en diffère sur plus d'un point. Toutefois le caractère essentiel de la mitose hétérotypique de Flemming est, d'après Strasburger, la double fissure longitudinale des chromosomes ; la deuxième division semble préparée avant l'accomplissement de la première. C'est dans ce sens que Strasburger entend que la première mitose est toujours hétérotypique. La deuxième mitose est dite *homoeotypique*. Elle s'effectue sans apparition d'une nouvelle fente longitudinale (Voir les deux fig. 26 et 27). Les divisions suivantes sont typiques.

(1) Dixon : *The possible function of the nucleolus in Heredity* (Ann. of Bot., t. 13, 1899).

(2) Strasburger : *Ueber Reduktionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich. Iéna* (G. Fischer), 224 p., 1900.

Digitized by Google

La forme des chromosomes n'a, pour Strasburger, qu'une importance secondaire. Dans les cellules végétatives, les chromosomes n'ont pas nécessairement la forme d'un U, il arrive que les deux branches de l'U sont inégales, d'où la forme en crochet. Ailleurs ils sont rectilignes, et comme ils s'appuient sur les fibres du fuseau par une de leurs extrémités, la division rappelle tout à fait le mode homoeotypique, surtout lorsque le nombre de chromosomes est réduit (3e mitose et suivantes du pollen et du sac embryonnaire).

Réduction chromatique dans l'anthère. — Les descriptions nouvelles confirment le fait déjà connu que le nombre réduit de chromosomes apparaît pour la première fois au moment de la division du noyau des cellules-mères polliniques. Indépendamment des travaux qui viennent d'être passés en revue, il faut encore citer les suivants.

Le noyau des cellules-mères polliniques passe, d'après Wiegand (1), par l'état de synapsis avec expulsion, hors des filaments chromatiques, d'amas irréguliers (phénomène artificiel probablement). Le spirème se fend longitudinalement. Les chromosomes sont en nombre réduit (18 chez *Convallaria*, 7 chez *Poïamogeton*), le fuseau est multipolaire.

D'après Rosenberg (2), chez *Zostera marina*, il y a division des cellules-mères polliniques en tétrade, contrairement à l'opinion de Hofmeister. Ces cellules sont extrêmement allongées, parallèles entre elles et obliques sur la surface de l'anthère. Les deux divisions sont longitudinales, de sorte que les grains de pollen sont très longs (8 μ sur 2). Le noyau passe par l'état de synapsis avec stade en faucille du nucléole. Il y a 6 chromosomes au lieu de 12 que l'on trouve aux mitoses précédentes. Un certain nombre de cellules-mères demeurent indivises et stériles, elles se résorbent plus tard. Dans le grain de pollen, il y a également 6 chromosomes lors de la division du noyau et formation d'une cloison en verre de montre qui disparaît ensuite.

Selon Murbeck (3), les cellules initiales chez *Ruppia rostellata* se divisent en 16 chromosomes pour donner les cellules-mères. L'auteur a constaté les stades de synapsis, de dolichonéma (tous deux de longue durée), de spirème, de diachinèse. Durant ce dernier, le filament se segmente en 8 chromosomes. La première division est hétérotypique, la deuxième homoeotypique.

Lloyd (4) a étudié la division des cellules-mères du pollen et du sac embryonnaire des Rubiacées : la première mitose est hétérotypique et

(1) Wiegand : *The development of the microsporangium and microspores in Convallaria and Potamogeton* (Bot. Gaz., t. 28, 1899).

(2) Rosenberg : *Ueber die Pollenbildung von Zostera* (Med. Stockholms Högskolas bot. Inst., Upsala, 1901).

(3) Murbeck : *Ueber die Embryologie von Ruppia rostellata Koch* (K. Svenska Vet. Ak. Handlingar, Stockholm, 1902).

(4) Lloyd : *The comparative embryology of the Rubiaceae* (Mem. Torrey bot. Club, t. 8, 1902).

Digitized by Google

à nombre réduit de chromosomes (10 chez *Crucianella*, 12 chez *Asperula*), la seconde est homoeotypique, les suivantes typiques.

Ishikawa (1) a signalé une exception. Le nombre réduit apparaîtrait chez *Allium fistulosum* dans les cellules primordiales et leur division serait hétérotypique. Mottier (2) a étudié *Allium Cepa* et n'a jamais trouvé le nombre réduit dans les cellules primordiales dont la division est d'ailleurs typique. La division des cellules-mères est au contraire hétérotypique et à n chromosomes. Guignard (l. c.) soutient pour *Allium siculum* et *Naias major*, la même opinion que Mottier.

La cellule-mère donne naissance par deux divisions successives à 4 grains de pollen. Les Cypéracées font cependant exception. Wille (1882) avait observé que la cellule-mère ne produisait qu'un seul grain de pollen. Strasburger (1884) déclara qu'il se formait comme d'habitude, 4 noyaux, dont 3 étaient arrêtés dans leur développement. Il n'y a pas de fusion nucléaire quoiqu'en pense Wille. Juel (3) étudie les *Carex*. La cellule-mère divise son noyau en 4. Trois de ces noyaux dégénèrent et restent inclus à l'intérieur de la membrane du grain de pollen, membrane qui n'est autre que celle de la cellule-mère. Les cellules stériles refoulées ne s'isolent pas par des cloisons. La pollinisation a lieu par le vent, ce qui rend cette diminution du nombre des grains de pollen assez surprenante.

Wille croyait avoir découvert une autre exception chez les Asclépiadées. La pollinie revêtue de sa membrane d'exine renfermait pour lui toute la masse des cellules-mères non divisées. Ceci avait été admis par Strasburger (1889). Mais ce dernier (4) examine à nouveau l'*Asclepias* en se proposant d'y rechercher le moment où se produit la réduction chromatique. Il arrive à la conclusion que les cellules primordiales fonctionnent directement, sans se diviser, comme cellules-mères (on en connaît d'autres cas : *Malva*, *Datura*, *Mentha*, *Chrysanthemum*). Elles se divisent deux fois de suite et dans ces divisions il y a 10 chromosomes au lieu de 20. La première mitose est hétérotypique, la seconde homoeotypique. Les Asclépiadées rentrent donc dans le cas normal. Mais cette famille de plantes (au moins certaines tribus de la famille) présente plusieurs particularités : 1° les deux divisions se produisent dans la même direction, de sorte que les grains de pollen sont disposés en série (ceci existe normalement pour le sac embryonnaire et ses cellules-sœurs) ; 2° les divisions cellulaires ne sont pas suivies d'une

(1) Ishikawa : *Die Entwicklung der Pollenkörner von Allium fistulosum, etc.* (Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokyo, t. 5, 1897).

(2) Mottier : *Ueber die Chromosomenzahl bei den Entwicklung der Pollenkörner von Allium* (Ber. deutsch, bot. Ges., t. 15, 1897).

(3) Juel : *Beiträge zur Kentniss der Tetradentheilung*. III. *Die Entwicklung der Pollenkörner bei Carex* (Jahrb. wiss. Bot., t. 35, 1900).

(4) Strasburger : *Einige Bemerkungen an der Pollenbildung bei Asclepias* (Ber. deusch. bot. Ges., t. 19, 1901).

Digitized by Google

séparation et d'un arrondissement des cellules (beaucoup d'Orchidées sont dans le même cas); 3° le cloisonnement succède immédiatement à la division nucléaire (cloisonnement successif comme chez les Monocotylédones).

Frye (1) étudie plusieurs *Asclepias* et *Acerates*. Ses résultats sont concordants avec ceux de Strasburger. Gager (2) les confirme également.

Le cloisonnement successif des Asclépiadées constitue une exception parmi les Dicotylédones. Guignard (3) en avait précédemment signalé une autre. Chez *Magnolia*, la première mitose de la cellule-mère pollinique est suivie de la formation d'une cloison incomplète. Il apparaît une membrane annulaire laissant au milieu un large orifice (on croirait voir un *Cosmarium*). La paroi ne se complète qu'après la seconde mitose, suivie elle-même d'un cloisonnement analogue, mais plus rapide et sans arrêt. C'est là un cas intermédiaire entre ce qui se passe chez les Monocotylédones et chez les Dicotylédones. On sait que Guignard a signalé aussi des exceptions chez les Monocotylédones (Orchidées).

Réduction chromatique dans l'ovule. — Il y a beaucoup plus d'irrégularité dans les divisions de la cellule-mère du sac embryonnaire que dans celles de la cellule-mère du pollen. Les cellules issues des deux premières mitoses sont disposées en une file et une seule d'entre elles devient un sac embryonnaire, les autres demeurent stériles. De plus si ces cellules sont souvent au nombre de 4 comme dans le cas du pollen, souvent aussi il s'en forme seulement 3 ou 2, parfois plus de 4. Dans bien des cas, la cellule-mère devient directement et sans division préalable un sac embryonnaire. Malgré ces variations, il semble résulter des recherches récentes que ces cellules-mères sont bien les homologues des cellules-mères du pollen, comme l'avait dit Overton (1893).

Strasburger (1884) avait constaté le nombre réduit des chromosomes dans les cellules-mères du sac embryonnaire chez *Allium* et *Helleborus*. Mottier (4) déclare que la première mitose de la cellule-mère est hétérotypique chez *Helleborus* et *Podophyllum*. Duggar (5) l'admet aussi pour *Bignonia vetusta*.

Strasburger (6) dit que le caractère auquel se reconnaît la cellule-

(1) Frye : *Development of the pollen in some Asclepiadaceae* (Bot, Gaz., t. 31, 1901).

(2) Gager : *The development of the pollinium and sperm-cells in Asclepias Cornuti* (Ann. of Bot., t. 16, 1902).

(3) Guignard : *Mode particulier de formation du pollen chez Magnolia* (C. R. Ac. Sc. t. 127), 1898.

(4) Mottier : *Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks* (Jahrb. wiss. Bot., t. 31, 1898).

(5) Duggar : *On the development of the pollen grain and the embryosack in Bignonia vetusta* (Bull. Torrey bot. Club, 1899).

(6) Strasburger : *Reduktionstheilung, etc.* (Iena, 1900).

Digitized by Google

mère du sac embryonnaire dans le tissu du nucelle est la réduction de nombre des chromosomes et en outre l'hétérotypie de sa première mitose et l'homoeotypie de la seconde. Les divisions suivantes sont typiques.

D'après Juel (1), la cellule-mère d'*Antennaria dioica* donne naissance par deux divisions à n chromosomes, la première hétérotypique, la seconde homoeotypique, à 4 cellules dont l'une devient le sac embryonnaire.

D'après Wiegand (2), dans *Convallaria maialis*, la cellule-mère subit une première mitose hétérotypique, identique à la première des cellules-mères polliniques de la même plante. La deuxième ressemble aussi à la seconde division pollinique. La première division nucléaire seule est suivie d'un cloisonnement, mais la membrane disparaît après l'anthèse. Les 4 noyaux se trouvent donc réunis; ils se divisent simultanément pour donner un sac embryonnaire de constitution normale. Les deux noyaux polaires se fusionnent. Toutes ces mitoses montrent 18 chromosomes; il y en a 36 dans les mitoses végétatives. Chez *Potamogeton foliosus*, la cellule-mère se divise en deux cellules binucléées. Mais ici la cellule supérieure dégénère; l'inférieure devient le sac embryonnaire. La chromatine est réunie en une masse centrale dans le noyau. Chez *Canna indica*, la cellule-mère donne par deux divisions dont la première est hétérotypique, la seconde homoeotypique, une file de 4 cellules dont l'inférieure devient le sac embryonnaire. Il y aurait 6 chromosomes à la mitose hétérotypique comme dans les cellules végétatives et 3 seulement aux suivantes.

Schniewind-Thies (3) étudie plusieurs Liliiflores. Dans *Galtonia candicans* et *Convallaria maialis*, la cellule-mère subit deux divisions à n chromosomes, la première est hétérotypique, la seconde homoeotypique. L'une de ces cellules devient le sac embryonnaire dont le noyau par trois bipartitions typiques donne les 8 noyaux habituels. (Il est à noter que cette description diffère sensiblement de celle de Wiegand pour *Convallaria*). Dans *Scilla sibirica* et *Allium Ursinum*, la cellule-mère par une division hétérotypique produit deux cellules dont l'une est le sac embryonnaire. La deuxième division se passe dans le sac et elle est homoeotypique, elle est suivie de deux divisions typiques produisant les 8 noyaux. Enfin dans *Tulipa Gesneriana*, la cellule-mère se transforme directement en sac embryonnaire. Les deux divisions atypiques ont lieu ici dans le sac et il suffit d'une mitose typique pour

(1) Juel : *Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung Antennaria* (K. Svenska Vet. Ak. Händl., Stockholm, 1900).

(2) Wiegand : *The development of the embryosac in some monocotyledonous plants* (Bot. Gaz., t. 30, 1900).

(3) : Schniewind-Thies : *Die Reduktion der Chromosomenzahl und ihr folgenden Kerntheilungen in der Embryosack-mutterzellen der Angiospermen.* Iena (G. Fischer). 34 p. 1901.

Digitized by Google

arriver aux 8 noyaux. Il résulte de ce travail que le nombre de divisions qui conduisent de la cellule-mère à la cellule-oosphère est variable, mais que néanmoins les deux premières divisions présentent le nombre réduit de chromosomes et sont atypiques.

Koernicke (1) déclare qu'il y a conformité parfaite des divisions des cellules-mères du pollen et du sac embryonnaire chez *Iris*, *Yucca*, *Canna*, *Podophyllum*.

Ernst (l. c.) constate que, dès la première division de la cellule-mère du sac embryonnaire, le nombre des chromosomes est réduit (12 chez *Paris*, 6 chez *Trillium*). La première mitose est suivie d'un cloisonnement, mais non la seconde. De ces deux cellules binucléées, l'inférieure devient le sac dont le centre est occupé par une large vacuole. Les divisions suivantes sont normales et toutes à 12 chromosomes chez *Paris*, à 6 chez *Trillium*. On se souvient que dans d'autres Liliacées (*Lilium*, *Fritillaria*, *Tulipa*), le nombre de chromosomes des deux tétrades nucléaires n'est pas le même, ainsi que l'a montré Guignard. La double fécondation existe; mais l'un des noyaux polaires semble évoluer pour son propre compte sans aucune union.

Murbeck (l. c.) observe chez *Ruppia rostellata* que la division qui sépare la cellule-mère du sac embryonnaire de la cellule de la calotte s'effectue avec 16 chromosomes. Les divisions de la cellule-mère et les suivantes n'en présentent que 8. Comme pour le pollen, le noyau passe par les stades de synapsis, de dolichonema et de spirème. La première mitose produit deux cellules inégales, une grande inférieure qui se subdivise en deux par une cloison transversale, une petite supérieure qui acquiert une cloison oblique. Cette disposition des cloisons est normale chez *Ruppia*; elle a été observée ailleurs, mais dans des mitoses polliniques (*Potamogeton crispus* et *Orchis mascula*, Wille; *Typha Schuttleworthii* et *Neottia Nidus-avis*, Goebel). Des 4 cellules ainsi disposées, l'interne devient le sac embryonnaire.

Pour compléter les homologies des organes mâles et femelles citons un cas tératologique observé par Nemec (2). Dans des anthères pétaloïdes anormales d'*Hyacinthus orientalis*, Nemec a trouvé des grains de pollen en forme de sacs, dans lesquels se produisaient par trois bipartitions successives 8 noyaux situés par 4 aux extrémités du grain comme dans un sac embryonnaire. Et même deux noyaux, on aurait dit polaires, se rapprochaient au milieu du grain sans se fusionner. Le grain de pollen se comportait ici comme un sac embryonnaire.

Chez les Gymnospermes, bien que les choses se passent autrement que chez les Angiospermes et que le sac embryonnaire se remplisse

(1) Koernicke : *Studien an Embryosackmutterzellen* (Sitzungsber. Niederrhein. Ges. Natur- und Heilkunde, Bonn, 1901).

(2) Nemec : Bull. intern. Ac. Sc. Bohème, 1898.

Digitized by Google

d'un tissu (l'endosperme), les homologies sont les mêmes. La cellule-mère du sac embryonnaire correspond à la cellule-mère du pollen.

L'existence du nombre réduit de chromosomes dans les noyaux de l'endosperme constatée par Overton (1893) et Dixon (1894) est confirmée par Blachmann (1). Mais l'auteur ne dit pas à quel moment se produit la réduction.

Juel (2) a constaté chez *Larix sibirica*, que la cellule-mère du sac embryonnaire se divise en 4 cellules dont l'inférieure devient le sac, et que dès la première mitose de la cellule-mère, il y a 12 chromosomes, tandis que les cellules du nucelle en possèdent plus de 20 (24 sans doute). La première mitose est hétérotypique et identique à la première des cellules-mères polliniques de la même plante. La deuxième est homoeotypique. La première division du sac embryonnaire est typique et rappelle les mitoses végétatives, mais avec seulement 12 chromosomes. Dans un hybride, *Syringa rothomagensis*, l'auteur attribue la stérilité à l'irrégularité de la formation de la tétrade ; il manque quelque chose permettant la division hétérotypique.

(1) Blachmann : *On the cytological features of fertilization and related phenomena in Pinus silvestris* (Philos. Trans. R. Soc. London, 1898).

(2) Juel : *Beitrage zur Kentniss der Tetradentheilung. I. Die Tetradentheilung in der Samenanlage von Larix* (Jahrb. wiss. Bot., t. 35, 1900).

(*A suivre*). H. Ricòme.

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

SUR UNE ACROCÉCIDIE

DE

VERONICA CHAMAEDRYS L.

par M. Aug. DAGUILLON

On connaît l'acrocécidie produite si fréquemment sur les extrémités de certains rameaux de la Véronique Petit-Chêne (*Veronica Chamaedrys* L.) par la piqûre d'un Cécidomyidé du genre *Perrisia* (*P. Veronicae* Vallot). Elle figure, sous le n° 4061, dans le Catalogue de Darboux et Houard (1) ; les auteurs la représentent (fig. 846-847) et la décrivent dans les termes qui suivent : « Les feuilles terminales » (du rameau affecté), « couvertes de poils blancs feutrés, « sont dressées, appliquées l'une contre l'autre par leurs bords, « et délimitent ainsi une cavité contenant des larves jaune-rou- « geâtre ». Souvent les deux dernières paires de feuilles subissent la déformation ; la pénultième est alors la plus développée des deux et enferme la dernière, beaucoup plus réduite, dans la cavité qu'elle limite et qui est aussi occupée par les larves. C'est, en somme, à part le villosisme des feuilles, une disposition assez semblable à celle que présente l'acrocécidie produite sur les extrémités des tiges d'*Hypericum perforatum* L. par *Thecodiplosis Giardiana* Kieff., cécidie sur laquelle Giard a attiré l'attention (2) et dont j'ai eu, il y a quelques années, l'occasion de décrire dans ce recueil l'organisation anatomique (3) : Giard a fort exactement comparé la disposition des feuilles altérées à celle de deux hémisphères de Magdebourg.

(1) G. Darboux et C. Houard : Catalogue systématique des zoocécidies de l'Europe et du bassin méditerranéen, Paris, 1901.

(2) A. Giard : Sur la castration parasitaire de l'*Hypericum perforatum* L. par le *Cecidomyia Hyperici* Bremi et par l'*Erysiphe Martii* Lev. (Comptes-rendus de l'Académie des sciences de Paris, 1889, tome 109, p. 324).

(3) Aug. Daguillon : Sur une diptérocécidie foliaire d'*Hypericum perforatum* (Révue générale de Botanique, tome X, 1898, p. 5).

Digitized by Google

J'ai voulu voir de plus près quelles sont les modifications apportées par l'action du parasite dans la structure des feuilles de la cécidie : la présente note a pour objet de faire connaître les résultats de cette étude. Les échantillons qui m'ont servi avaient été recueillis par moi à Kertugal, près de St-Quay-Portrieux (Côtes du Nord) ; mais on sait que la cécidie dont il s'agit est assez commune.

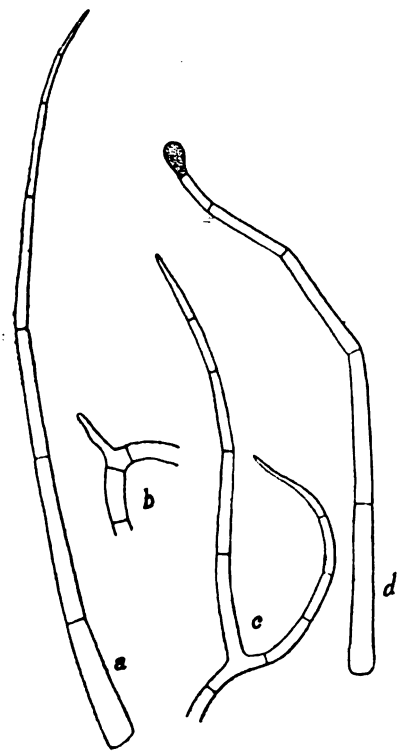


Fig. 29. — Poils de *Veronica Chamaedrys*, grossis environ 60 fois. — *a*, poil simple d'une feuille normale ; *b*, *c*, poils rameux d'une feuille anormale ; *d*, poil glanduleux.

La modification la plus apparente qu'il importe de signaler est l'abondance des poils à la surface des feuilles de la cécidie.

On sait qu'une feuille normale de *Veronica Chamaedrys* porte des poils, assez clairsemés, soit sur le bord de son limbe, soit à sa face inférieure le long des nervures (nervure médiane et ses principales ramifications) : ils sont rares à la face supérieure. Ces poils (fig. 29, *a*) sont de même nature que ceux qu'on observe le long de la tige et dont j'ai eu l'occasion de signaler la distribution à la surface de cet organe (1). Ils sont simples, pluricellulaires, unisériés, et la cellule extrême se termine en pointe mousse ; aucune cellule ne renferme de trace de produits de sécrétion : ce sont des *poils tecteurs*.

Les poils qui couvrent la feuille altérée, aussi bien sur sa face

(1) Aug. Daguillon : Observations sur la distribution des poils à la surface de la tige de quelques espèces herbacées (Revue générale de Botanique, t. XIV, p. 289).

Digitized by Google

supérieure que sur sa face inférieure, sont beaucoup plus nombreux et plus serrés. A ce point de vue, il faut remarquer que toutes les cécidies que l'on peut recueillir ne présentent pas le même degré de villosisme ; il en est dans lesquelles on reconnaît aisément, à travers les poils, la forme et l'aspect de la feuille ; dans d'autres, au contraire, le revêtement villeux est si dense et si feutré que la feuille devient au premier abord méconnaissable ; dans ce cas extrême on peut s'assurer que les poils sont indifféremment insérés en des points quelconques de la surface foliaire, sans qu'il soit possible d'établir aucune relation entre leur distribution et celle des nervures.

Il suffit d'examiner au microscope quelques-uns de ces poils, prélevés sur divers échantillons de la cécidie, pour observer qu'ils diffèrent très généralement des poils normaux par un caractère remarquable (fig. 29, *d*). Ordinairement simples, comme ces derniers, et unisériés, ils se terminent par un petit renflement en forme de boule : la dernière cellule du poil reste courte et dilate son extrémité en une sorte de vésicule à peu près sphérique ; cette cellule est, de plus, remplie d'une substance granuleuse et jaune ; parfois ce caractère de cellule sécrétrice s'étend aussi à l'avant-dernière cellule, qui prend la forme d'un tronc de cône, supportant la dernière, réduite alors aux deux tiers ou aux trois quarts d'une sphère, comme si, en réalité, c'était la dernière cellule qui s'était cloisonnée tout en demeurant, dans sa totalité, sécrétrice (fig. 30, *b*).

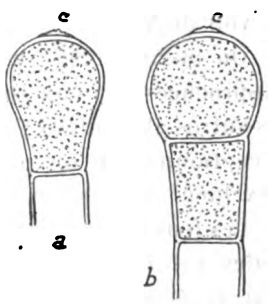


Fig. 30. — Extrémités, très grossies, de poils glanduleux de *Veronica Chamaedrys*. — *a*, poil ne comprenant qu'une cellule sécrétrice ; *b*, poil à deux cellules sécrétrices ; *c*, bouton apical.

On peut remarquer, d'ailleurs, que le sommet du poil est occupé par une sorte de petite émergence en forme de bouton (fig. 30, *c*), due à un épaississement apical de la cuticule dans la cellule terminale.

Les poils de la cécidie sont, en résumé, des *poils glanduleux*.

Exceptionnellement j'ai observé quelques cécidies dans lesquelles les poils ne prenaient pas le caractère glanduleux. Ceci

Digitized by Google

paraît se présenter surtout dans des cécidies revêtues d'un feutrage particulièrement riche de poils. Par contre, au lieu de rester simples comme les poils tecteurs normaux ou les poils glanduleux de la plupart des cécidies, il n'est pas rare de voir les poils de ces cécidies exceptionnelles se ramifier plus ou moins irrégulièrement (fig. 29, *b* et *c*), soit dès leur base, de manière à former une sorte de touffe, soit à des hauteurs diverses. On sait que les poils tecteurs ramifiés sont rares chez les Scrofularinées. Vesque (1) ne les signale que chez les *Verbascum* et les considère comme dérivant des poils unisériés : « les poils rameux des *Verbascum* », dit cet auteur, « dérivent nettement des poils unisériés ; ils résultent de l'excrois- « sance latérale de certaines cellules quelconques, refoulées ensuite « vers l'extérieur ». La présence de poils tecteurs rameux à la surface de certaines cécidies formées par des plantes normalement dépourvues de cette sorte de poils, comme *Veronica Chamaedrys*, était donc intéressante à signaler et vient à l'appui de la manière de voir de Vesque.

On observe bien aussi des cécidies dans lesquelles se trouvent rapprochées les deux sortes de poils, les uns simplement tecteurs, les autres glanduleux ; mais ce mélange des deux formes est plutôt exceptionnel et on peut dire, d'une manière générale, qu'elles s'excluent réciproquement.

Les feuilles des cécidies se distinguent encore des feuilles normales par leur épaississement assez notable, abstraction faite de leur revêtement villeux. Le limbe d'une feuille normale a, dans ses parties latérales, une épaisseur moyenne de $0^{mm}12$; au niveau des nervures principales, et notamment de la nervure médiane, assez fortement saillantes à la face inférieure de la feuille, il prend une épaisseur sensiblement plus grande, par exemple une épaisseur double ($0^{mm}24$) ou même quadruple ($0^{mm}50$) au niveau de la nervure médiane. L'épaisseur d'une feuille anormale croît progressivement depuis les parties latérales jusqu'au niveau de la nervure médiane, de sorte que celle-ci ne forme pas, sur la face dorsale, une saillie aussi nettement délimitée que dans la feuille normale ; quant aux principales nervures secondaires, elles sont, elles aussi, indiquées sur cette face par des protubérances qui se fondent

(1) Vesque : Caractères des principales familles Gamopétales (Ann. Sc. Nat., Bot., 7e série, tome I, 1885).

Digitized by Google

progressivement sur les côtés : l'épaisseur moyenne du limbe est, par exemple, de 0mm20 dans les parties latérales, pour s'élever progressivement jusqu'à 0mm40 ou même 0mm56 au niveau de la nervure médiane ; l'épaississement est donc relativement plus considérable dans les parties latérales qu'au niveau de la nervure médiane.

Dans la feuille normale l'épiderme est formé de cellules à contours sinueux (fig. 32, *a* et *b*). Ce n'est qu'en face des nervures que les cellules de l'épiderme inférieur prennent des contours à peu près rectilignes, avec une forme allongée dans le même sens que la nervure. Les cellules sont plus larges et plus hautes dans l'épiderme supérieur que dans l'épiderme inférieur, qui est riche en stomates, tandis que ces éléments sont très rares dans l'épiderme supérieur : l'épaisseur de l'épiderme supérieur peut atteindre, par exemple, 23 μ (avec un minimum de 13 μ), tandis que celle de l'épiderme inférieur paraît varier entre 13 et 18 μ.

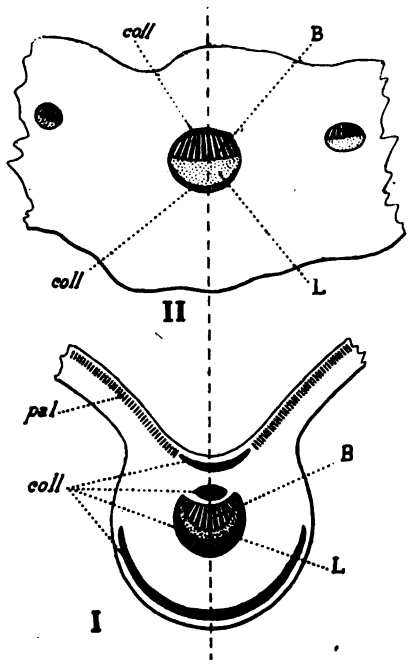


Fig. 31. - Coupes transversales schématiques, au voisinage de la nervure médiane, de deux feuilles de *Veronica Chamaedrys*, l'une, normale (I), l'autre, anormale (II). — B, bois ; L, liber ; *coll*, collenchyme ; *pal*, tissu en palissade. (Le trait discontinu indique le plan de symétrie).

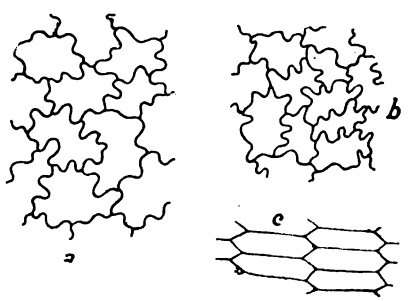


Fig. 32. — *Veronica Chamaedrys* ; feuille normale ; fragments d'épiderme. — *a*, épiderme supérieur ; *b*, épiderme inférieur entre les nervures ; *c*, épiderme inférieur au niveau d'une nervure.

Digitized by Google

Dans les feuilles anormales, la forme des cellules épidermiques présente des caractères assez variables, et il n'est pas aisé de la rattacher à un type bien défini : la formation de poils abondants par cet épiderme contribue à donner à ses cellules des contours fort irréguliers. Sur les échantillons où le revêtement villeux est le moins abondant et, par suite, la cécidie le moins profondément différenciée, les cellules gardent, dans les parties nues de l'épiderme, leur forme sinueuse, mais avec des dimensions plus petites (fig. 33, *a* et *b*), et l'épiderme inférieur porte encore d'assez nombreux stomates. Quand la différenciation de la cécidie est poussée plus loin, les cellules épidermiques tendent à prendre des contours moins sinueux ou même presque rectilignes (fig. 33, *c*).

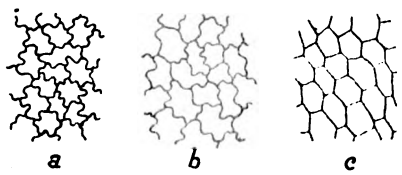


Fig. 33. — *Veronica Chamaedrys*, feuille anormale : divers aspects de l'épiderme inférieur.

L'épaisseur de l'épiderme paraît être assez uniforme, et à peu près la même à la face supérieure du limbe qu'à sa face inférieure : elle est d'environ 23 à 26 μ ; on voit qu'elle est sensiblement supérieure à l'épaisseur de l'épiderme d'une feuille normale.

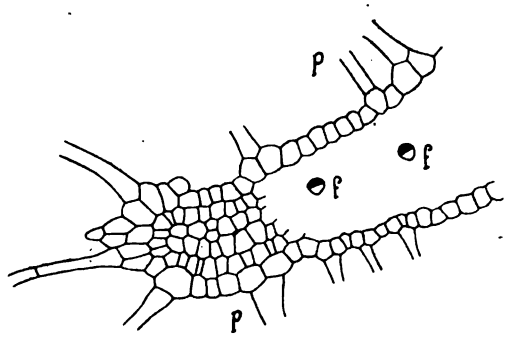


Fig. 34. — Coupe transversale du limbe d'une feuille anormale au voisinage de son bord. — *p*, naissance des poils ; *f*, faisceaux libéro-ligneux.

Le mésophylle de la feuille normale est nettement bifacial : sous l'épiderme supérieur se trouve une assise de palissades dont chacune mesure environ 34 μ de hauteur sur 13 μ de large ; le reste du mésophylle est constitué par du tissu lacuneux, dont les éléments sont répartis généralement en trois assises. — Le mésophylle

Digitized by Google

de la feuille anormale a une structure beaucoup moins hétérogène. Ses éléments forment, par exemple, environ huit assises assez irrégulières : les cellules immédiatement adjacentes à l'épiderme supérieur ont bien, sur la coupe transversale, une forme quadrangulaire qui rappelle celle des cellules en palissade ; mais elles sont sensiblement isodiamétriques, et une cellule de l'épiderme supérieur recouvre à peu près la même surface foliaire qu'une des cellules sous-jacentes, tandis qu'une cellule homologue de la feuille normale recouvre jusqu'à trois ou quatre palissades.

Dans la feuille normale, la région de la nervure médiane a une structure assez hautement différenciée (fig. 31, I). Le bois du faisceau libéro-ligneux a ses éléments fortement serrés et distribués en rangées régulières qui divergent en éventail de la face supérieure à la face inférieure : on peut observer jusqu'à 12 ou 13 rangées de vaisseaux, comprenant chacune environ 4 vaisseaux, et entre lesquelles sont intercalés de minces rayons parenchymateux. Au liber est adossé un cordon de collenchyme qui se présente sur la coupe transversale sous la forme d'un croissant. Dans la concavité de l'arc ligneux on observe un cordon semblable. Enfin les deux ou trois assises de cellules adjacentes à l'épiderme supérieur, au-dessus de la nervure, et à l'épiderme inférieur, au-dessous d'elle, offrent aussi des caractères collenchymateux. Le tissu en palissade est nettement interrompu au niveau de la nervure médiane. — Une structure semblable se retrouve dans les nervures secondaires ; ce n'est que dans les nervures de troisième ordre et dans leurs dernières ramifications, plongées en plein parenchyme, que s'efface complètement le collenchyme, de sorte que ces petites nervures n'interrompent aucunement la continuité du tissu en palissade.

Dans la feuille anormale, la différenciation de la nervure médiane est beaucoup moins profonde (fig. 31, II). Les éléments ligneux sont sensiblement moins nombreux (on peut n'observer, par exemple, que trois rangées de trois vaisseaux), et le mésophylle ambiant tend à se fondre avec les rayons parenchymateux qui séparent les rangées de vaisseaux. On peut bien observer encore, à la face supérieure et à la face inférieure du faisceau, une ébauche de cordons de collenchyme ; mais rien de semblable ne se remarque au contact de l'épiderme. La structure du mésophylle

Digitized by Google

n'est pas sensiblement modifiée par le voisinage de la nervure, qui s'y trouve comme noyée. La structure des nervures secondaires est encore plus simple : on n'y observe nulle trace de collenchyme.

En résumé, les modifications principales apportées dans l'organisation de la feuille de *Veronica Chamaedrys* L. par l'action de *Perrisia Veronicae* Vallot sont les suivantes :

1° Développement considérable des poils, qui deviennent généralement glanduleux, tout en restant simples et unisériés, ou peuvent devenir rameux, sans prendre le caractère glanduleux.

2° Epaississement général de la feuille, ayant pour effet d'atténuer la saillie des nervures principales.

3° Epaississement de l'épiderme.

4° Simplification de la structure du mésophylle, accompagnée d'une augmentation du nombre total de ses assises.

5° Simplification de la structure des nervures, avec diminution du nombre de leurs éléments ligneux et disparition du collenchyme qui les accompagne.

Ces modifications offrent, sauf en ce qui concerne le villosisme, quelque analogie avec celles que j'ai signalées dans la feuille d'*Hypericum perforatum* L. sous l'action de *Thecodiplosis Giardiana* Kieff.

(Travail du laboratoire de la Sorbonne).

Digitized by Google

INFLUENCE

DE LA

CULTURE EN SERRE

SUR QUELQUES PLANTES DES ENVIRONS DE PARIS

par J. BÉDÉLIAN *(Suite).*

(Planches 10 à 13).

---

4. — Leontodon hispidum L.

Pour la plante cultivée en serre, la section transversale d'une feuille dans sa partie inférieure présente une nervure médiane dont la forme est presque ronde ; chez les échantillons cultivés en plein air cette section a une forme à peu près demi-circulaire.

La section de cette nervure présente, en plein air, trois grands faisceaux disposés en arc et un assez grand nombre de petits qui sont épars. Pour la plante de la serre les trois grands faisceaux se retrouvent, mais les autres n'existent pas.

La forme du faisceau central, ronde chez la plante de plein air, est, dans l'autre plante, un peu allongée dans le sens du plan médian de la feuille.

Bois. — Quant aux vaisseaux du bois, leurs files sont plus rapprochées les unes des autres que chez la plante de plein air ; c'est seulement dans trois ou quatre endroits qu'elles sont séparées par des rayons de cellules parenchymateuses.

Le nombre de files de vaisseaux du bois est plus considérable en serre qu'en plein air, la quantité des vaisseaux dans une file étant sensiblement la même ; il y en a deux ou trois.

Liber. — Pour le liber on constate que dans la serre les paquets de tubes criblés sont formés de cellules assez larges en coupe et

Digitized by Google

sont séparés par d'autres cellules, dont le diamètre est seulement un peu plus grand. En plein air, au contraire, les tubes criblés sont extrêmement étroits et les cellules purement parenchymateuses ont une coupe beaucoup plus large.

Couche génératrice. — Le tissu de la couche génératrice est beaucoup plus développé chez la plante de la serre que chez celle de plein air ; les cellules, situées le long d'un même rayon, sont plus nombreuses, plus aplaties et moins hautes que chez la plante de plein air.

Sclérenchyme. — Le tissu scléreux de la plante de la serre est beaucoup moins développé que celui de la plante de plein air; chez cette dernière, l'épaisseur du sclérenchyme péricyclique, situé au dos du faisceau, est considérable ; sur une même file il y a de neuf à dix cellules à parois très épaissies. En outre, du côté du bois, il y a aussi plusieurs files de cellules scléreuses. Chez la plante de la serre, le tissu correspondant est moins développé et moins sclérifié ; les parois sont très minces et ne sont en quelque sorte épaissies que sur leurs angles, aux endroits où convergent les parois de trois cellules voisines.

Ceci est applicable aussi bien aux cellules situées au dos du liber qu'à celles qui sont contre le bois, du côté de la face ventrale de la feuille.

Autour du faisceau il y a chez la plante de la serre une seule assise de cellules aplaties dans le sens radial et jouant le rôle d'endoderme. Chez la plante de plein air il n'y a qu'une assise de semblables cellules du côté supérieur de la feuille, mais il y en a deux du côté inférieur. Seulement ces cellules sont moins aplaties que chez l'autre plante, elles sont plutôt irrégulières, même arrondies.

Parenchyme. — Les cellules parenchymateuses de la nervure sont de tailles assez variées. Cependant on peut dire que dans la serre d'une façon générale la taille des cellules est moindre qu'en plein air. Ajoutons que l'assise sous-épidermique est formée en plein air de cellules plus petites et à parois un peu plus épaisses que dans la serre ; parfois en face du faisceau médian on distingue sur une petite longueur deux assises de petites cellules au lieu d'une.

Épiderme. — Les cellules de l'épiderme du côté supérieur de la feuille sont isodiamétriques dans la plante cultivée en serre tandis que dans les conditions ordinaires elles sont aplaties.

Digitized by Google

En résumé, si l'on compare un *Leontodon hispidum* cultivé en serre à une plante de la même espèce vivant en plein air on peut dire :

Chez la plante qui a poussé dans une serre les vaisseaux sont disposés en files plus régulières et ils sont plus nombreux ; il y a moins de différence dans le liber entre le diamètre des tubes criblés et celui des autres cellules ; le sclérenchyme est beaucoup moins développé et possède des parois beaucoup plus minces ; les cellules du parenchyme sont en moyenne plus petites ; le collenchyme est moins développé et l'épiderme du côté supérieur de la nervure a ses cellules isodiamétriques au lieu de les avoir aplaties.

5. — Lycopus europæus L.

La section transversale de la nervure médiane de la feuille de plein air a la forme d'un triangle, dont les côtés sont à peu près égaux entre eux : celui qui correspond à la face supérieure présente aussi une petite gouttière juste en face du faisceau médian. La même section de la plante de serre présente aussi un triangle, mais l'angle inférieur est assez arrondi, et le côté opposé à cet angle est légèrement convexe.

Chez la plante de plein air le centre de ce triangle est occupé par un grand faisceau libéro-ligneux qui a une forme presque demi-circulaire avec une légère concavité vers la face supérieure de la feuille. Chez la plante de la serre le centre de ce triangle est également occupé par un très grand faisceau libéro-ligneux, mais ce faisceau est, en coupe, allongé parallèlement au plan du limbe ; sa longueur, dans ce sens, est trois à quatre fois plus grande que dans le sens perpendiculaire.

Bois. — Le bois du grand faisceau de la plante de plein air est constitué par une quarantaine de files de vaisseaux, généralement séparées l'une de l'autre par une ou deux files de cellules parenchymateuses, tandis que chez la plante de serre il n'y en a que vingt-cinq environ. Sur une même file, chez la première plante, il y a de cinq à sept vaisseaux, et, chez la seconde, il n'y en a qu'un, deux, très rarement trois, et même ces vaisseaux sont assez épars au lieu d'être en lignes bien régulières. Chez la première

Digitized by Google

plante les vaisseaux sont plus petits aux deux extrémités de chacune des files et plus grands au milieu. Chez la seconde ils sont sensiblement égaux, et leur lumière est à peu près semblable à celles des grands vaisseaux de l'autre plante.

En outre dans la plante de serre les parois des vaisseaux sont moins épaisses et surtout moins lignifiées.

Liber. — Le tissu libérien dans la plante de la serre est constitué par une couche moins épaisse que celle de la plante de plein air ; les tubes criblés sont en outre plus grands et moins nombreux que dans les conditions naturelles.

Couche génératrice. — Le tissu de la couche génératrice libéro ligneuse, dans la serre, est constitué par sept-huit assises de cellules généralement quadrangulaires à parois très minces et encore en voie de division, bien que beaucoup d'entre elles soient isodiamétriques. En plein air, au contraire, cette couche est formée seulement de deux ou trois assises de cellules qui sont très aplaties. Ceci indique que dans cette dernière plante les cellules se différencient très rapidement, soit du côté du bois, soit du côté du liber, tandis que dans l'autre plante les cellules s'agrandissent davantage et restent plus longtemps aptes à se diviser avant d'acquérir leur différenciation.

Sclérenchyme. — La partie inférieure du tissu sclérenchymateux de la plante de plein air est formée, au milieu de l'arc, et dans le sens radial, de six à sept cellules, et ce nombre diminue en allant vers les bords, où il est réduit à deux ou trois. En serre la partie du milieu n'a que 4 ou 5 cellules d'épaisseur, et vers les extrémités aussi une ou deux. Les lumières des cellules scléreuses dans la serre sont, en général, beaucoup plus grandes qu'en plein air, surtout dans la partie supérieure du tissu ; les parois de ces cellules sont restées très minces, tandis que dans les conditions ordinaires elles sont caractérisées par l'épaisseur très considérable de leurs parois, surtout pour le sclérenchyme situé à la pointe du bois, du côté de la face supérieure de la feuille.

Les cellules de l'endoderme de la serre, comparées à celles de la plante ordinaire, sont plus grandes, plus isodiamétriques, à parois plus minces (quoique la différence dans l'épaisseur des parois ne soit pas grande).

Parenchyme. — Les cellules parenchymateuses de la nervure

Digitized by Google

médiane ont des tailles assez variables dans l'une comme dans l'autre plante. Mais on peut dire qu'il y a plus de grandes cellules dans la serre, et qu'en outre, si l'on compare les plus grandes de part et d'autre, c'est dans la serre que sont celles de plus grande taille. De plus, les assises du parenchyme dans la serre sont moins nombreuses.

Collenchyme. — Dans les deux plantes il existe sous l'épiderme au dos de la nervure médiane un paquet de collenchyme qui se prolonge sur deux côtés par trois assises sous-épidermiques à petites cellules plus étroitement unies entre elles que les autres assises du parenchyme de la nervure. En plein air, ce paquet collenchymateux est plus large et les parois des cellules sont beaucoup plus épaisses que dans la serre.

Épiderme. — En plein air les cellules épidermiques de la face inférieure de la feuille, contre le collenchyme, sont un peu plus hautes que larges ; à la face supérieure, elles sont plutôt un peu aplaties parallèlement au limbe. La différence entre ces deux épidermes est à peine marquée dans la serre où les cellules sont à peu près isodiamétriques. En outre, dans la première plante, la cuticule est un peu plus épaisse que dans la seconde.

En résumé, dans la serre, le bois est beaucoup moins développé, a moins de files de vaisseaux et moins de vaisseaux dans chaque file ; le liber est formé d'éléments plus larges et moins nombreux : l'assise génératrice reste plus épaisse par suite d'une différenciation plus tardive de ses cellules ; le sclérenchyme fasciculaire est moins abondant et ne possède que des cellules à parois minces ; les parties purement parenchymateuses sont formées en moyenne de cellules plus grandes ; le collenchyme est moins développé et les parois cellulaires sont plus minces.

6. — **Cirsium arvense** Scop.

Une section transversale faite dans la nervure médiane du *Cirsium arvense*, cultivé en serre, présente la forme d'un triangle à côtés sensiblement égaux et un peu convexes tandis que la nervure médiane d'une feuille de cette plante cultivée en plein air, triangulaire également, présente une légère concavité aux côtés qui correspondent à la face inférieure de la feuille.

Digitized by Google

Bois. — Les vaisseaux sont dans la serre à peu près aussi nombreux qu'en plein air, mais leur lumière est plus large, leur coupe transversale est généralement ellipsoïdale et leurs parois sont un peu moins lignifiées. En plein air la plupart des vaisseaux ont, en coupe, une forme hexagonale bien nette. En plein air, les files de vaisseaux sont séparées par des rangs de cellules parenchymateuses, tandis qu'en serre elles sont rapprochées l'une de l'autre.

Liber. — Les cellules du liber présentent dans la serre des tubes criblés plus larges et dont les parois sont plus minces que dans les cellules libériennes de la plante cultivée en plein air.

Couche génératrice. — Dans la serre, la couche génératrice libéro-ligneuse est moins épaisse qu'en plein air ; les cellules sont moins aplaties et même sont presque isodiamétriques, caractère qui n'est pas ordinaire pour des cellules du cambium.

Sclérenchyme. — Le tissu sclérenchymateux est très bien développé dans la plante de plein air, tant au dos du liber qu'à la pointe du bois ; il a ses parois très épaisses ; dans la serre, ce même tissu est moins étendu et les parois de ses cellules sont très minces. C'est la même différence que nous avons déjà constatée dans les plantes précédemment examinées.

Endoderme. — Dans la serre, les cellules endodermiques sont un peu plus petites, plus isodiamétriques, tandis que dans la plante de plein air elles sont plus aplaties. Par endroits, chez la plante de la serre, les cellules voisines de l'endoderme affectent une disposition en un anneau incomplet autour du faisceau.

Parenchyme. — Les cellules parenchymateuses dans la serre sont plus petites, en général, et le nombre des assises est plus grand. D'une façon générale les cellules sont plus polygonales dans la serre, elles limitent entre elles à leurs angles de très petits méats ; en plein air, au contraire, les cellules sont plus arrondies et les méats sont un peu plus volumineux.

Collenchyme. — Dans l'angle situé à la face inférieure de la feuille il y a, en plein air, un paquet de collenchyme très développé, les lumières des cellules sont arrondies et séparées les unes des autres par des parois fort épaissies ; dans la serre, ce collenchyme est formé de cellules polygonales à parois rectilignes relativement minces. En serre, presque toutes les cellules collenchymateuses sont égales entre elles, tandis qu'en plein air les cellules les plus

Digitized by Google

voisines de l'épiderme sont beaucoup plus petites que les autres cellules qui vont en augmentant de taille à mesure qu'elles sont plus rapprochées des régions purement parenchymateuses.

Épiderme. — Les cellules de l'épiderme de la plante, poussée en serre dans les conditions de la plus grande humidité, ont leurs parois externes plus minces ; elles sont à peu près carrées en coupe, tandis que dans la plante de plein air elles sont plus hautes et ont une cuticule plus épaisse.

En résumé, nous pouvons dire que dans la serre les vaisseaux sont plus grands quoique presque en même nombre ; le liber a des tubes criblés plus larges ; la couche génératrice est moins épaisse et ses cellules moins aplaties ; le sclérenchyme et le collenchyme sont peu développés et ont leurs caractères spéciaux peu marqués ; le parenchyme est constitué par des cellules plus petites et plus nombreuses ; les cellules épidermiques sont moins hautes et ont une cuticule moins épaisse.

7. — **Hieracium Pilosella** L.

Si l'on examine la structure anatomique du limbe de l'*Hieracium Pilosella*, on voit que les différences entre les deux plantes comparées sont beaucoup plus considérables que dans le *Plantago media*.

Dans la serre (fig. 9, pl. 10) il n'y a aucune différence de forme entre les cellules sous-jacents à l'épiderme supérieur et celles du côté opposé. Les unes, comme les autres, sont irrégulièrement arrondies ou légèrement polygonales. En plein air, au contraire (fig. 8, pl. 10), il y a une différence extrêmement nette entre le tissu palissadique et le tissu lacuneux.

8. — **Erodium cicutarium** L'Hér.

L'*Erodium cicutarium* présente un cas intéressant de la différence entre les structures des deux sortes de plantes que nous étudions.

La plante de plein air (fig. 6, pl. 10) possède un tissu palissadique bien caractérisé et un tissu lacuneux formé de cellules petites et un peu allongées parallèlement au limbe.

Digitized by Google

Dans la serre (fig. 7, pl. 10) les assises du parenchyme voisines de l'épiderme supérieur sont à peu près isodiamétriques et celles du tissu lacuneux sont très grandes, de trois à quatre fois plus longues que larges et leur plus grande dimension est parallèle au plan de l'épiderme.

9. — **Capsella Bursa-pastoris** Mœnch.

Épiderme. — Dans la serre les cellules épidermiques des feuilles sont devenues beaucoup plus grandes qu'en plein air ; le nombre des cellules sur une même surface est presque moitié plus petite dans la serre. Les parois des cellules sont un peu plus onduleuses, ce qui donne un autre aspect à l'ensemble des cellules épidermiques de serre. Le nombre de stomates est fortement diminué dans la serre ; ainsi tandis qu'en plein air sur le champ du microscope, on compte 15 stomates, on n'en compte que deux pour la face supérieure d'une feuille de serre (fig. 4 et 5, pl. 10).

Sur la face inférieure, les différences de grandeur des cellules, de la forme des parois, de leur épaisseur, sont encore plus accentuées, mais le rapport des stomates est moins frappant.

III. — STRUCTURE DU PÉTIOLE

1. — **Plantago lanceolata** L.

Les pétioles de la plante de plein air et de la plante cultivée en serre ont, en coupe transversale, la forme d'un demi-cercle irrégulier qui serait échancré du côté de la face supérieure de la feuille.

Dans la plante de la serre les parties latérales des pétioles sont plus allongées et plus minces ; en plein air, ces parties sont au contraire plus courtes, mais plus épaisses.

Les deux sortes de pétioles présentent chacun 5 grands faisceaux entre lesquels il y en a de plus petits intercalés. Ces faisceaux ont sensiblement la même taille et la différence d'épaisseur des deux pétioles tient seulement à la plus grande abondance de cellules parenchymateuses dans la plante de plein air.

Pour comparer avec précision les cellules épidermiques des

Digitized by Google

deux sortes de plantes, on peut distinguer les cellules épidermiques disposées en face des faisceaux et celles qui sont placées entre les faisceaux. Les premières sont petites dans un cas comme dans l'autre, mais elles sont moins hautes et un peu plus larges dans la serre qu'en plein air ; leur paroi externe est moins épaisse et moins fortement cuticularisée. Les secondes sont plus grandes que les premières, elles ont à peu près la même taille dans l'une et l'autre plantes, mais les parois externes sont un peu plus épaisses en plein air.

En plein air, les deux assises qui viennent après l'épiderme ont leurs cellules plus petites que les assises sous-jacentes et ont leurs parois assez épaisses ; la première, surtout en face des faisceaux, présente les caractères du collenchyme. Aux pointes du croissant du pétiole il y a un paquet de collenchyme très développé.

Dans la serre, la première assise au-dessous de l'épiderme présente aussi des cellules plus petites que les autres assises, mais les parois sont très minces et les méats assez grands, même en face des faisceaux ; aux pointes du croissant il existe un collenchyme moins étendu que dans la plante précédente.

Les cellules parenchymateuses sont, en plein air, de taille plus uniforme, leur nombre est plus considérable ; par exemple, entre deux faisceaux latéraux, les cellules comptées d'une face à l'autre, sont au nombre de 22, tandis que dans la serre il y en a seulement une quinzaine ; en plein air les parois de ces cellules sont un peu plus épaisses qu'en serre ; leur forme est presque toujours ronde ; en serre les contours sont plus irréguliers.

Les faisceaux libéro-ligneux de la serre sont un peu allongés dans le sens tangentiel, tandis que ceux de plein air sont beaucoup plus arrondis. Autour de chaque faisceau les cellules se disposent en anneau ; en plein air il n'y a généralement qu'une seule assise qui affecte cette forme ; dans la serre il y en a parfois deux tout autour et même quelquefois du côté libérien du faisceau.

Contre cet endoderme, au dos du liber d'une part, à la pointe du bois d'autre part, il y a un massif de cellules, non sclérifiées, mais qui en plein air ont toutes leurs parois uniformément épaissies tandis que dans la serre les épaississements n'existent qu'aux angles des cellules.

Le liber, dans le pétiole de la plante de serre, a ses cellules

Digitized by Google

beaucoup plus grandes que celles de la plante de plein air; l'ensemble de ce liber est un peu plus large.

Les faisceaux sont complètement différenciés de telle sorte que chez aucune des deux plantes on ne voit de tissu ayant le caractère de cambium.

Le nombre des vaisseaux du faisceau médian est à peu près le même de part et d'autre. Dans la serre, la lumière des plus grands vaisseaux est plus large.

En résumé, dans la serre le pétiole est plus grêle, les tissus de soutien (parois de vaisseaux, fibres, collenchyme) sont moins développés.

2. — **Plantago media** L.

D'un seul coup d'œil on voit tout de suite que le pétiole de la plante qui était cultivée dans la serre est arrêté dans son développement. Tant pour les parties parenchymateuses que pour les faisceaux libéro-ligneux le développement est moindre que dans le pétiole qui, pendant tout l'hiver, s'est trouvé dans les conditions ordinaires. Chacun de ces pétioles a cinq grands faisceaux libéro-ligneux qui, dans la serre, sont allongés tangentiellement, tandis qu'en plein air ils sont tout à fait arrondis.

Pour l'épiderme, les cellules situées en face des faisceaux sont, comme chez le *Plantago lanceolata* que nous avons décrit, plus larges, moins hautes dans la serre qu'en plein air. En outre les parois épidermiques sont plus minces et moins fortement cuticularisées. Quant aux cellules épidermiques correspondant aux intervalles situés entre les faisceaux il n'y a pas de différence sensible entre deux plantes.

Dans le pétiole de la plante cultivée en plein air une assise sous-épidermique à la face supérieure, deux ou trois à la face inférieure en face des faisceaux et une seule dans les intervalles sont formées de cellules petites et sensiblement carrées en coupe. A mesure que l'on s'approche du milieu du pétiole, les cellules sont plus grosses et plus rondes. A l'extrémité des pointes latérales, que présente le pétiole, en coupe transversale, il y a sous l'épiderme un paquet de collenchyme.

Chez le pétiole de la plante cultivée en serre, l'assise sous-épidermique de la face supérieure est à cellules plus grandes qu'en

Digitized by Google

plein air ; elle diffère donc moins des autres cellules parenchymateuses du pétiole. La face inférieure du pétiole présente au contraire les mêmes particularités pour les cellules sous-épidermiques qu'en plein air. Les parois du paquet de cellules qui forment les pointes latérales du pétiole sont plus minces qu'en plein air.

Le tissu parenchymateux présente en plein air des cellules plus grandes qu'en serre, ainsi que des méats intercellulaires beaucoup plus considérables. Le nombre même des cellules parenchymateuses est en plein air plus grand que dans la serre en dessus des faisceaux libéro-ligneux comme en dessous ; dans un endroit où il y a vingt-cinq cellules parenchymateuses dans la plante de plein air, il n'y en a que vingt dans la plante de serre.

Tous les faisceaux, en serre comme en plein air, sont entourés de cellules disposées en anneau ; mais en serre il y a généralement deux assises de ces cellules du côté du bois et trois du côté du liber ; en plein air il n'y en a, respectivement aux mêmes endroits, qu'une ou deux. Au-dessus du bois et au-dessous du liber il existe un massif de petites cellules ; chez la plante de serre ces cellules ont leurs parois minces, tandis qu'en plein air les parois sont beaucoup plus épaisses et les lumières plus petites. Le liber du pétiole est plus abondant chez l'exemplaire poussé dans les conditions ordinaires. Les vaisseaux sont beaucoup plus développés en nombre, dans le sens tangentiel et dans le sens radial, dans le pétiole de plein air ; leurs lumières sont plus larges en plein air. Dans la plante de serre les files de vaisseaux sont bien distinctement séparées l'une de l'autre par des files de cellules étroites parenchymateuses, tandis qu'en plein air, dans beaucoup d'endroits, les files de vaisseaux se touchent directement.

En résumé, comme nous l'avons déjà vu dans les exemples précédents, le pétiole est en plein air plus développé et ses tissus de soutien le sont également davantage.

3. — **Hieracium Pilosella** L.

La section transversale d'un pétiole d'*Hieracium Pilosella* a la forme d'un demi-cercle et présente en outre deux petites ailes latérales, pourvues de petits faisceaux ; en plein air, le diamètre est légèrement bombé tandis que dans la serre il est à peu près recti-

Digitized by Google

ligne. L'épaisseur comptée dans le plan médian du pétiole est plus grande chez la première plante que chez la seconde.

Les deux pétioles possèdent trois grands faisceaux libéroligneux qui sont plus grands dans le pétiole de plein air. Les deux faisceaux latéraux du pétiole de serre sont plus petits que le central, tandis que cette différence existe à peine dans le pétiole de plein air. Les conditions qui sont réalisées dans la serre n'ont pas changé la forme des faisceaux libéro-ligneux du pétiole comme cela s'est produit chez deux plantes, examinées précédemment.

Épiderme. — L'épiderme supérieur est chez les deux plantes formé de cellules un peu allongées parallèlement à son plan. Dans la plante de serre, les cellules sont un peu plus grandes et ont leurs parois externes moins épaisses et moins cutinisées.

Les cellules de l'épiderme inférieur sont un peu plus petites ; la différence est remarquable surtout pour la lumière des cellules, car les parois externe, interne et latérales sont très épaisses ; cela surtout pour la plante de plein air, car pour la plante de serre les différences entre les deux épidermes, quoique appréciables, sont beaucoup atténuées.

Écorce. — En plein air, l'assise sous-épidermique de la face supérieure a ses cellules plus petites et à parois plus épaisses que le reste du parenchyme. A la face inférieure ce caractère est plus accentué, un certain nombre d'assises, 4 en face du faisceau central, 2 ou 3 dans les autres régions, ont tout à fait le caractère du tissu de collenchyme.

Dans la plante de serre, l'assise sous-épidermique de la face supérieure ne se distingue du reste du parenchyme que par ses cellules un peu plus petites ; à la face inférieure 2 ou 3 assises en face des faisceaux et une seule dans les intervalles, possèdent des cellules un peu plus petites et à parois un peu plus épaisses que les autres cellules du parenchyme ; ces cellules sont assez étroitement unies entre elles, mais on ne peut pas dire qu'elles constituent un véritable collenchyme. Le massif de cellules qui termine les ailes du pétiole présente des parois un peu plus épaisses en plein air qu'en serre.

Quant aux cellules parenchymateuses, nous n'avons pas trouvé de différence bien considérable entre les deux échantillons com-

Digitized by Google

parés. On peut seulement dire que les cellules parenchymateuses de la serre sont un peu plus petites et leurs contours plus irréguliers.

Autour des faisceaux de la plante cultivée en plein air, il n'y a pas d'assise de cellules disposées en anneau et jouant le rôle d'endoderme ; dans la serre, bien qu'habituellement cette disposition soit plus accentuée, elle existe à peine ; l'assise annulaire visible par endroits n'est jamais nettement continuée.

Du côté inférieur du liber et du côté supérieur du bois, il existe deux paquets de cellules, non sclérifiées ; en plein air, les parois de ces cellules sont plus épaisses ; en serre, les cellules sont plus régulières et l'épaississement des parois existe seulement aux angles des cellules.

Le liber est un peu plus développé en plein air, la taille des cellules y est plus variable, et, en moyenne, plus grande que dans la serre.

Dans l'un et dans l'autre pétiole, le tissu cambial présente à peu près le même aspect. Le bois est plus développé en plein air ; la lumière des vaisseaux est plus grande, leurs parois sont plus épaisses.

En résumé, les différences que nous venons de constater sont les mêmes que chez les plantes précédentes.

4. — **Capsella Bursa-pastoris** Moench.

Ayant déjà fait l'étude comparative des pétioles de trois plantes, nous nous bornerons ici à signaler en quelques mots les différences les plus importantes.

En coupe transversale, le pétiole de la plante de serre a une forme beaucoup plus aplatie que le pétiole de la plante de plein air, qui est triangulaire. Les ailes latérales sont plus distinctes dans la campagne, où elles ont la forme d'une assez large lanière, tandis qu'en serre ces parties passent progressivement au corps du pétiole.

Le pétiole de plein air étant plus rond a une épaisseur plus considérable qui tient surtout à la plus grande dimension des cellules parenchymateuses. Outre le grand faisceau libéro-ligneux central il y a dans les deux pétioles d'autres plus petits, mais pas en même nombre.

Épiderme. — Les cellules épidermiques en serre ne diffèrent

Digitized by Google

pas beaucoup des cellules en plein air; aux parties extrêmes du pétiole et à la face supérieure seulement, les cellules épidermiques de la serre ont leurs dimensions un peu plus grandes que celles de plein air et, en outre, leurs parois externes sont moins épaisses et moins cutinisées.

Écorce. — Les cellules sous-jacentes à l'épiderme, même en plein air, ne présentent aucune particularité dans l'épaississement de leurs parois ; leurs dimensions sont moins considérables que celles des cellules parenchymateuses voisines. Ces dernières sont très irrégulières dans le pétiole de la plante de serre ; leur taille y est plus petite ; elles sont en général plus larges que hautes, tandis qu'en plein air elles sont plus isodiamétriques ; en serre, dans le tissu parenchymateux, on voit une quantité de grands méats intercellulaires ; en plein air, il n'en existe pas du tout. Dans les deux pétioles autour des faisceaux il y a une assise endodermique, dont les cellules sont plus aplaties en serre ; en plein air, elles sont isodiamétriques.

Les faisceaux de la serre sont un peu plus larges qu'en plein air ; les paquets de cellules au dos du liber et à la pointe du bois existent également, mais pas plus en plein air qu'en serre ; les parois ne sont pas épaissies, le liber est plus développé en serre ; ici aussi le cambium est formé très nettement de trois assises. Les vaisseaux ont dans la serre des lumières plus larges et des parois beaucoup plus minces.

IV. — STRUCTURE DE LA TIGE

1. — **Erodium cicutarium** L'Hér.

Si nous comparons les coupes transversales des tiges de deux plantes ayant poussé l'une en plein air, l'autre en serre, nous voyons de suite que la première a un diamètre plus considérable, des faisceaux beaucoup plus gros et plus lignifiés. Pour pouvoir davantage préciser les différences, examinons les diverses régions de ces plantes en allant de l'extérieur vers l'intérieur.

Épiderme. — Les cellules épidermiques vues en coupe sont de

Digitized by Google

taille assez variable, mais d'une façon générale on peut dire qu'elles sont un peu plus grandes dans la tige poussée en plein air ; leur paroi externe est plus bombée, plus épaisse, plus fortement cuticularisée que dans la serre.

Écorce. — L'épaisseur plus considérable de l'écorce pour la plante située en plein air tient surtout à la dimension plus grande des cellules parce que le nombre des assises est à peu près le même dans l'une et l'autre plantes ; les deux à trois assises sous-jacentes à l'épiderme sont formées de cellules arrondies plus petites que celles des assises internes ; dans la plante de plein air elles ont des parois plus épaisses.

Les dimensions des cellules corticales vont en augmentant à mesure que l'on considère des assises plus rapprochées du cylindre central. Mais l'endoderme présente des cellules plus petites, isodiamétriques ou allongées dans le sens tangentiel.

Cylindre central. — Le péricycle forme des paquets de fibres au dos des faisceaux et ces paquets sont réunis d'un faisceau à l'autre par une ou deux assises de cellules à parois également sclérifiées, mais la sclérification n'est pas toujours continue : çà et là il y a des cellules dont les parois, quoique assez épaisses, ne sont pas sclérifiées.

Dans la plante de plein air les paquets des fibres péricycliques présentent six à sept cellules dans le sens radial et 20 à 25 dans le sens tangentiel ; leurs parois sont très épaisses et très fortement sclérifiées.

Les cellules du péricycle qui se trouvent entre deux faisceaux libéro-ligneux ont leurs lumières beaucoup plus grandes et leurs parois moins épaissies en coupe transversale que les cellules qui sont au dos des faisceaux.

Chez la plante cultivée en serre le péricycle, situé au dos des faisceaux, contient à la fois moins de files de cellules et dans chaque file moins de cellules que chez la plante précédente, en outre l'épaisseur des parois y est beaucoup moindre. Quant aux bandes de péricycle qui vont d'un faisceau à l'autre, elles ont une partie sclérifiée, mais les interruptions par des cellules restées parenchymateuses sont plus nombreuses et plus étendues, il y a même parfois défaut total de lignification entre deux faisceaux.

Digitized by Google

Dans la plante cultivée en plein air, il y a sur la coupe onze faisceaux libéro-ligneux, tandis que l'on n'en voit que dix dans la plante de serre, mais la différence importante est la taille de ce faisceau et le développement de leurs tissus.

Grands et petits faisceaux alternent à peu près dans l'une et l'autre plante, mais en moyenne ceux de la plante cultivée dans les conditions ordinaires, sont beaucoup plus développés dans le sens radial et tangentiellement.

Le tissu libérien chez l'*Erodium cicutarium* de plein air forme un arc, constitué par des amas de tubes criblés de très faible diamètre, entremêlés de cellules purement parenchymateuses et moins étroites et quelques cellules à très large lumière.

Dans la plante de serre les diverses cellules du liber sont de taille bien plus uniforme que chez la plante précédente. En particulier, les plus grandes cellules ont des dimensions moindres ; ces dernières cellules ont en outre des parois moins épaisses.

Chez la plante de plein air, le tissu cambial présente à peu près partout quatre assises de cellules aplaties dans le sens radial, ce qui indique une prolifération intense de cellules ; au contraire dans la plante de serre, il n'y a guère que deux assises de cellules en voie de division et encore ces cellules sont plus carrées en coupe, indiquant qu'elles se divisent avec moins d'énergie et ont déjà presque acquis, du côté du liber, sinon leur taille, du moins leur caractère définitif.

Dans la plante de plein air le bois est formé de très larges vaisseaux, plus nombreux naturellement dans les plus gros faisceaux. Dans les derniers les vaisseaux sont entremêlés de fibres, du côté du cambium, et de cellules parenchymateuses, du côté de la moelle. Dans les faisceaux plus petits, presque toutes les cellules, qui ne sont pas des vaisseaux, sont restées parenchymateuses.

Dans la serre, le bois est bien moins développé, surtout dans le sens radial, il n'y a guère que 2 ou 3 vaisseaux par file. Entre ces vaisseaux il y a quelques cellules à paroi un peu épaissie, mais beaucoup moins que chez l'autre plante, et à peine sclérifiée.

A la pointe de chaque faisceau, du côté interne, la zone périmédullaire a beaucoup divisé ses cellules de façon à constituer un petit paquet resté parenchymateux. Ce tissu est plus abondant en plein air que dans la serre.

Digitized by Google

Dans les rayons médullaires la file radiale de cellules située juste au milieu de l'intervalle qui sépare deux faisceaux est exactement dirigée vers le centre de la moelle mais les autres files se recourbent plus ou moins vers les faisceaux dont elles sont les plus rapprochées de façon à constituer avec celles, situées de l'autre côté du même faisceau, des sortes d'U, qui entourent les faisceaux jusqu'au péricycle.

Cette disposition est moins nettement visible chez la plante qui a poussé dans une serre.

Les cellules de ces rayons médullaires sont très grandes, plutôt arrondies dans la plante de plein air et à contours plus sinueux dans l'autre plante.

Les cellules de la moelle présentent respectivement dans les deux échantillons comparés les mêmes caractères que les rayons médullaires.

En résumé, nous voyons que les tiges des échantillons cultivés en plein air sont beaucoup plus grandes et que chacun des tissus concourt à cet épaississement plus considérable. C'est surtout dans les faisceaux que se traduit cette différence : ils sont beaucoup plus longs et plus larges que dans la serre et l'augmentation de taille porte à la fois sur les paquets de sclérenchyme péricyclique situés au dos des faisceaux sur le bois, sur le liber, sur la zone périmédullaire. Le collenchyme est également plus développé, surtout en face des faisceaux.

2. — Capsella Bursa-pastoris Mœnch.

La section transversale d'une tige de *Capsella Bursa-pastoris*, qui a poussé dans les conditions naturelles, présente une surface environ deux fois plus grande que celle de la plante cultivée en serre ; la différence de surface tient surtout au développement de la moelle et un peu à celui de la zone libéroligneuse; quant à l'écorce, elle est sensiblement la même de part et d'autre.

Examinons la succession des tissus en allant de l'extérieur vers l'intérieur.

Épiderme. — Les cellules épidermiques n'ont pas la même taille dans les échantillons comparés ; leur paroi externe en plein air est beaucoup plus épaisse et plus fortement cuticularisée que dans la

Digitized by Google

serre. En observant l'ensemble des cellules épidermiques dans les deux plantes, on peut remarquer que, chez la plante de la serre, il y a plus de grandes cellules que chez l'autre plante et que, vues en coupe transversale, presque toutes les cellules sont isodiamétriques ou même un peu plus larges que hautes, tandis qu'en plein air les cellules sont, en général, plus hautes que larges.

Écorce. — Dans la tige de plein air le tissu cortical est constitué par 5 ou 6 assises de cellules arrondies, un peu allongées dans le sens tangentiel, tandis que dans la serre il y a également 5 à 6 assises, mais les cellules sont plus isodiamétriques et leur taille, surtout dans les parties plus rapprochées du cylindre central, est beaucoup plus grande que celle des cellules corticales de la tige de plein air ; en serre, les parois des cellules sont encore plus minces qu'en plein air et les méats intercellulaires sont moins considérables. L'assise endodermique, qui se voit très nettement dans la tige de plein air, présente des cellules larges, allongées dans le sens tangentiel, et à parois minces. Dans la tige de la plante de serre, cependant, l'assise endodermique diffère un peu moins des cellules corticales voisines, parce que celles-ci sont grandes comme nous l'avons dit plus haut. La forme générale des cellules de l'endoderme est la même ; elles sont allongées dans le sens tangentiel, mais en face des vaisseaux elles sont un peu plus petites.

Cylindre central. — Chez la plante de plein air, en face des faisceaux, le péricycle est formé le plus souvent d'une seule, quelquefois de deux assises de cellules.

La plupart de ces cellules sont à parois épaisses et sclérifiées, mais plusieurs ont gardé leurs parois minces et cellulosiques de sorte qu'il y a des interruptions dans la bande scléreuse péricyclique.

Dans l'intervalle des faisceaux, au-dessous de l'endoderme, toutes les cellules ont leurs parois très épaisses et la lignification s'étend dans les rayons médullaires de façon à venir rejoindre le bois des faisceaux. Les cellules qui ont leurs lumières les plus étroites sont celles situées le plus près de l'endoderme. Après ces zones fibreuses les rayons médullaires sont formés de grandes cellules arrondies à parois minces assez semblables à celles de la moelle.

Digitized by Google

Dans la serre, le péricycle situé au dos des faisceaux ne présente pas trace de sclérification. Entre les faisceaux, il y a, comme chez la plante précédente, des paquets fibrifiés allant d'un faisceau à l'autre, mais ces paquets comprennent dans un sens radial, environ moitié moins de cellules ; en outre, ces cellules ont leurs parois plus minces et leur lumière plus large.

Le nombre des faisceaux libéro-ligneux dans la tige de plein air s'élève à dix-neuf et dans celle de la serre à quinze seulement ; les faisceaux sont en général de plus grande taille en plein air, mais présentent une moindre uniformité de surface que dans la serre.

Les libers des deux tiges comparées se ressemblent beaucoup ; seulement, en serre, les cellules les plus voisines du péricycle sont plus aplaties qu'en plein air.

Les cellules de la couche génératrice dans les faisceaux libéro-ligneux de la tige de plein air sont un peu mieux caractérisées qu'en serre ; par exemple, dans le cambium de la plante cultivée en plein air, elles sont plus aplaties dans le sens radial tandis que dans la plante de serre elles sont plus hautes et ressemblent davantage aux cellules libériennes voisines.

Le nombre de vaisseaux est très variable suivant la taille des divers faisceaux. En moyenne, en plein air, les vaisseaux sont beaucoup plus nombreux qu'en serre, ils sont aussi plus larges. Du côté de l'assise génératrice dans la première tige, il y a beaucoup de fibres du bois tandis que dans la serre il n'y en a presque pas ; au contraire, les cellules purement parenchymateuses du côté de la moelle sont plus nombreuses dans la tige de la serre. Le bois primaire est plus dissocié et à éléments moins larges dans la plante cultivée en plein air que dans la plante de serre. Nous reviendrons sur cette question à la fin de notre travail.

Moelle. — Les cellules de la moelle, comme celles de la zone périmédullaire, dans les intervalles des faisceaux, sont très larges et à parois minces ; elles sont plus grandes et surtout plus nombreuses dans la plante de plein air.

En résumé, nous voyons que dans la plante cultivée en serre, la tige est moins épaisse, différence due surtout au moindre développement de la moelle ; que l'épiderme a ses cellules moins hautes et sa cuticule moins épaisse ; que la sclérification du péricycle

Digitized by Google

ou de la partie la plus extérieure des rayons médullaires est beaucoup moindre ; que les faisceaux sont moins grands ; que le bois dans son ensemble, surtout fibres et vaisseaux, est moins développé, bien que le bois primaire soit plus différencié.

V. — STRUCTURE DU PÉDONCULE FLORAL

1. — Capsella Bursa-pastoris Mœnch.

Un pédoncule floral de *Capsella Bursa-pastoris*, cultivé en serre, est plus mince et plus frêle que celui d'une plante de plein air. En coupe transversale il a une surface quatre fois moindre. Cette différence énorme est occasionnée par le développement de presque toutes les parties anatomiques du pédoncule, surtout de la moelle et des éléments de soutien. Il faut ajouter encore, pour préciser cette différence, qu'en plein air le pédoncule floral est traversé par vingt faisceaux libéro-ligneux, tandis qu'en serre on n'en voit que dix dans le pédoncule.

Épiderme. — Dans l'assise épidermique (*ep*, fig. 13 et 14, pl. 11), comme principale différence on peut montrer l'épaississement plus grand et la lignification plus forte de la paroi externe et même interne des cellules. D'ailleurs, ce fait a été observé chez toutes les plantes.

Écorce. — Le tissu cortical, en plein air (*ec*, fig. 13, pl. 11), forme une couche de cinq assises de cellules à peu près arrondies, séparées l'une de l'autre par de grands méats intercellulaires. Dans la serre (*ec*, fig. 14, pl. 11), ce tissu est bien modifié : le nombre des assises est de quatre seulement, les cellules sont aplaties dans le sens tangentiel et beaucoup plus petites. En conséquence de toutes ces modifications le tissu cortical du pédoncule floral en serre est deux fois moins épais qu'en plein air.

L'endoderme (*end*, fig. 13 et 14, pl. 11), en plein air, a ses cellules allongées dans le sens tangentiel et il se présente sur toute la coupe comme une assise très uniforme. En serre, au contraire, les cellules endodermiques paraissent en coupe de tailles plus variées.

Cylindre central. — Le péricycle, en plein air, présente une ou

Digitized by Google

deux assises des cellules au dos des faisceaux et de très gros paquets de fibres péricycliques dans les intervalles entre les faisceaux. Les cellules péricycliques qui se trouvent au dos des faisceaux ont leur coupe transversale allongée dans le sens tangentiel et des parois légèrement sclérifiées ; en serre, ces cellules sont très faiblement développées dans le sens tangentiel ; elles sont petites et leurs parois ne sont pas du tout lignifiées. Les massifs de cellules (*scl*, fig. 13, pl. 11) qui se trouvent dans les intervalles des faisceaux, dans le pédoncule dans la plante de plein air sont formés par une quinzaine d'assises de fibres péricycliques dans le sens tangentiel et de sept-huit cellules placées radialement ; les parois de ces fibres sont droites, lignifiées, de forme polygonale, et leurs dimensions augmentent à mesure que l'on s'approche de la périphérie du pédoncule vers son milieu, de façon que les fibres qui se trouvent près de la moelle sont deux fois plus grandes que celles qui touchent à l'endoderme. Chez le pédoncule de la plante de serre, les fibres péricycliques (*scl*, fig. 14, pl. 11) sont beaucoup moins développées surtout dans le sens radial, tandis que le nombre de leurs assises dans le sens tangentiel reste ici voisin de quinze, comme en plein air, le nombre de ces fibres est diminué de moitié dans le sens radial ; leurs parois sont très faiblement lignifiées, ce que l'on voit à leur faible coloration par le vert d'iode. Quant aux dimensions, elles augmentent aussi en allant dans la direction de l'extérieur du pédoncule vers son intérieur et la différence de dimension des fibres internes et des fibres externes est même ici plus grande que dans l'autre échantillon ; les fibres ont conservé leur forme nettement polygonale, mais l'épaisseur des parois beaucoup plus faible chez le pédoncule de la plante de serre, l'est surtout chez les fibres intérieures.

Le liber (*l*, *ls*, fig. 13. pl. 11) présente, en plein air, la forme d'un demi-cercle très régulier dont le diamètre est du côté extérieur. Ses cellules et celles de la couche génératrice sont très petites. Dans la serre (*l*, *ls*, fig. 14, pl. 11), les cellules du liber sont un peu plus grandes et aplaties, mais la forme du massif est différente ; elle se présente comme une simple bande arquée.

Les vaisseaux, chez l'échantillon cultivé en plein air, ont leurs lumières plus larges et sont plus nombreux. Leurs parois sont très épaisses et fortement lignifiées.

Digitized by Google

Le bois secondaire *bs*, est beaucoup plus développé dans l'échantillon de plein air, tandis que le bois primaire (*b*, fig. 13, pl. 11) y est au contraire dissocié et moins différencié que dans l'échantillon cultivé en serre (*b*, fig. 14, pl. II).

Comme nous avons déjà indiqué plus haut, la moelle a un plus grand diamètre dans le pédoncule floral de la plante en plein air.

En résumé, dans la serre le pédoncule floral est beaucoup plus mince ; ses parties de soutien et la moelle sont très faiblement développés ; les faisceaux libéro-ligneux sont moitié moins nombreux ; les parois des cellules épidermiques sont plus minces, le tissu cortical moins épais, le péricycle fortement diminué dans son développement, les massifs de cellules de soutien dans les faisceaux sont moins volumineux, les vaisseaux sont moins nombreux et leurs parois moins lignifiées ; la moelle est peu abondante. En un mot, le pédoncule de la plante de serre est devenu très frêle.

2. — **Hieracium Pilosella** L.

Le pédoncule floral d'*Hieracium Pilosella* de la serre, en coupe transversale, a une surface deux fois plus petite que celle du pédoncule floral de plein air ; le nombre des faisceaux est diminué, il est de douze en plein air et de neuf en serre, et la taille des faisceaux libéro-ligneux est également moindre. Le contour de la coupe du pédoncule de la plante de serre est régulièrement onduleux, de façon qu'il donne l'impression d'une sorte de polygone à angles arrondis, tandis, qu'en plein air, la coupe a la forme d'un cercle régulier.

Épiderme. — Il n'y a pas grande différence entre les cellules épidermiques des deux échantillons examinés ; on peut dire cependant que, dans la serre, les cellules sont un peu plus petites et un peu plus hautes que celles de la plante en plein air ; les parois sont un peu plus épaisses en plein air.

Écorce.— Le tissu cortical, en plein air, est formé par huit assises de cellules dans les intervalles entre les faisceaux et six assises en face des faisceaux ; en serre, ce tissu est plus mince, parce que les cellules elles-mêmes sont plus petites et moins larges qu'en plein air et qu'en outre leur nombre est diminué ; il n'y a que six assises entre les faisceaux et quatre à cinq en face des faisceaux.

Digitized by Google

L'endoderme, dans le pédoncule de plein air, présente une très nette assise de cellules à parois minces, souvent plus larges que hautes ; dans la serre, les cellules endodermiques sont arrêtées dans leur développement et sont presque aussi hautes que larges.

Cylindre central. — Au dos des faisceaux, le péricycle forme dans la plante en plein air des paquets sclérifiés ; entre les faisceaux, les cellules toujours petites du péricycle passent progressivement aux grandes cellules des rayons médullaires ; les unes et les autres ont leurs parois fortement épaissies et sclérifiées.

Dans la serre, l'épaississement des parois et la sclérification est moindre aussi bien au dos des faisceaux que dans les rayons médullaires. La transition entre les cellules petites du péricycle et les grandes cellules de la moelle est plus brusque en plein air.

En plein air, à la pointe du bois, il existe un paquet de cellules qui ne sont pas lignifiées, mais ont leurs parois épaissies. Dans la serre, ce tissu a un développement beaucoup moindre et ses parois sont peu épaissies.

Dans la serre, le tissu libérien est constitué par des cellules de taille assez uniforme et petite, tandis qu'en plein air le nombre de grandes cellules qui sont entremêlées aux petites est assez considérable et ce tissu, en plein air, est, dans chaque faisceau, plus allongé tangentiellement, mais moins épais dans le sens radial.

L'assise génératrice n'est plus visible dans aucun des deux échantillons, ce qui signifie que le développement des tissus du bois et du liber est complètement achevé. Les vaisseaux sont beaucoup plus nombreux dans les faisceaux libéroligneux du pédoncule de plein air, aussi bien dans le sens radial que dans le sens tangentiel ; les rayons de vaisseaux, en plein air, se touchent immédiatement, et dans un rayon leur nombre est de 2 ou 3, en serre, de 5 à 6 ou plus, en plein air ; leurs parois sont, en serre, beaucoup moins lignifiées; la lumière des vaisseaux, en plein air, est beaucoup plus uniforme, tandis qu'en serre les vaisseaux du milieu sont, comparés aux autres, beaucoup plus grands. Les cellules de la moelle sont plus grandes en plein air ; leurs parois sont plus minces dans la serre.

En résumé, dans la serre le pédoncule est plus frêle, les parties sclérifiées et lignifiées beaucoup moins développées. Les différences générales sont les mêmes que pour les pédoncules floraux du *Capsella Bursa-pastoris*, que nous avons étudié précédemment.

Digitized by Google

3. — **Bellis perennis** L.

La surface de pédoncule floral, en coupe transversale, chez la plante de plein air, est un peu plus grande que dans celle de la serre ; le nombre des faisceaux libéro-ligneux dans le premier pédoncule est de dix et de huit seulement dans le deuxième. Les faisceaux, en plein air, sont un peu plus grands qu'en serre ; mais la différence de surface des pédoncules est occasionnée plutôt par le plus fort développement de la partie médullaire du pédoncule dans l'échantillon cultivé dans les conditions ordinaires.

Épiderme. — Les cellules épidermiques du pédoncule, en plein air, sont partout plus grandes que les cellules épidermiques de la plante de serre ; elles sont plus hautes que larges tandis qu'en serre elles sont devenues isodiamétriques ; leurs parois externes sont plus fortement cuticularisées dans l'échantillon en plein air.

Écorce. — Dans l'échantillon de plein air il y a une assise sous-jacente à l'épiderme, dont les cellules sont plus petites que chez les autres assises du tissu cortical ; outre leur petite dimension, ces cellules sont caractérisées encore par l'épaisseur assez considérable de leurs parois ; elles ont une forme arrondie. Cette assise existe également dans l'échantillon de serre, mais les cellules, au lieu de se toucher toutes sur leur côté, laissent entre elles, çà et là, des intervalles aérifères.

Le tissu cortical, en plein air, est formé par quatre ou cinq assises de cellules de forme et de taille diverses ; elles sont quelquefois rondes, quelquefois polygonales, mais non à parois droites, quelques-unes sont même très irrégulières. En général, les dimensions augmentent de l'épiderme vers le cylindre central ; les plus grandes cellules sont quatre à cinq fois plus grandes que les plus petites cellules du tissu cortical; quelquefois on voit parmi les cellules de l'écorce quelques-unes très petites qui sont placées très irrégulièrement, et même en groupes. Dans le tissu cortical du pédoncule, en serre, les cellules sont toutes sans exception très rondes; leurs dimensions sont variables, mais pas autant que dans le cas précédent, l'augmentation de taille a lieu aussi dans la direction de l'extérieur vers l'intérieur. Les méats intercellulaires sont ici très nombreux, parce que les cellules, comme nous avons

Digitized by Google

déjà dit, sont très rondes, et ces méats sont aussi assez grands, tandis que chez l'échantillon de plein air les méats ne sont pas si nombreux et de taille si considérable ; les méats sont très grands surtout dans les premières assises de cellules corticales, en comptant à partir de l'épiderme vers le cylindre central.

L'endoderme est facile à reconnaître dans l'un et l'autre échantillon, mais ses cellules ne se distinguent pas par une forme spéciale de celles des autres assises corticales.

Cylindre central. — La différence entre le développement du péricycle dans l'une et l'autre plante, est très frappante. Dans l'échantillon cultivé en plein air, tous les faisceaux libéro-ligneux sont réunis l'un à l'autre au moyen de fibres péricycliques, colorés par le vert d'iode comme les vaisseaux, et il existe ainsi une ceinture complète autour des faisceaux et des rayons médullaires. Dans le pédoncule de la plante de serre, cette enveloppe scléreuse fait défaut parce que les massifs péricycliques disposés au dos des faisceaux ont conservé leurs parois minces et que d'autre part il n'y a pas eu non plus de sclérification entre les faisceaux.

Les faisceaux libéro-ligneux dans les deux plantes sont très différents suivant le développement réciproque du bois et du liber. Tandis que dans le pédoncule de plein air le bois est bien développé et le liber très faible, en serre, au contraire, c'est le liber qui a acquis une épaisseur très considérable et il y a très peu de vaisseaux. Les cellules médullaires ne diffèrent pas beaucoup dans les deux échantillons, cependant dans la serre elles sont devenues un peu plus petites et leurs méats sont dans la plupart des cas disparus ; leur forme est plus régulière dans le pédoncule de plein air.

En résumé, nous pouvons dire que l'étude de l'anatomie comparée des deux pédoncules de *Bellis perennis*, que nous venons de faire, montre que l'ensemble des conditions, réalisées dans la serre, a exercé sur la structure interne de ces organes la même influence que chez les pédoncules de *Capsella Bursa-pastoris* et d'*Hieracium Pilosella*.

Digitized by Google

VI. — STRUCTURE DE LA RACINE

1. — **Plantago major** L.

1° *Culture en plein air.*

Le cylindre central possède déjà de nombreuses formations secondaires ; le bois primaire est disposé en croix suivant quatre files radiales. Les vaisseaux secondaires, placés entre les files, sont deux ou trois fois plus grands que les primaires ; leurs parois sont aussi plus épaisses.

Le liber est constitué par quatre amas presque contigus, aplatis, allongés et plus larges au milieu qu'aux extrémités. Le péricycle et l'endoderme sont formés de cellules rectangulaires, allongées tangentiellement ; les cellules péricycliques sont plus grandes que les cellules de l'endoderme qui sont très aplaties.

Le tissu cortical interne est composé de quatre assises à cellules larges, basses et ellipsoïdales. Par contre, celles du tissu cortical externe sont rondes, nombreuses, plus grandes vers l'extérieur et séparées les unes des autres par de nombreux méats. Les assises du tissu cortical externe sont au nombre de 7-8. La couche subéreuse est formée par trois ou quatre assises de cellules rondes ou polygonales.

2° *Culture en serre.*

Les vaisseaux sont disposés en quatre files. Chaque file est formée par 6 ou 8 vaisseaux, dont la grandeur diminue très rapidement vers l'extérieur. L'épaisseur des vaisseaux aussi est fortement réduite vers l'extérieur. Le milieu de la racine est occupé par une quinzaine de cellules dont quelques-unes ont acquis déjà la forme d'un vaisseau, mais la paroi en est encore très mince et cellulosique. Le liber est disposé en couches assez minces allongées de telle sorte que les extrémités de deux libers voisins se touchent presque ; elles sont séparées seulement par une file de vaisseaux ligneux. Le péricycle est formé par des cellules polygonales, assez

Digitized by Google

grandes, presque isodiamétriques qui alternent avec les cellules plus petites de l'endoderme.

Le tissu cortical interne est formé par environ neuf assises de cellules à parois un peu épaisses ; la taille des cellules les plus internes augmente au fur et à mesure qu'on se rapproche de l'extérieur, mais dès la quatrième assise les cellules sont un peu plus petites. Le tissu cortical externe possède six assises à cellules presque isodiamétriques : les parois de celles-ci sont plus minces que les parois des cellules corticales internes ; leur taille aussi est moins considérable.

En serre, la différence de taille entre les cellules de l'assise pilifère et les cellules subéreuses est plus grande. Les cellules de l'assise pilifère sont plus petites qu'en plein air.

2. — **Plantago media** L.

1° *Culture en plein air* (Fig. 15, pl. 12).

Le bois présente le type quatre et on voit très nettement quatre files de vaisseaux, disposées en croix ; de grands vaisseaux viennent se placer entre les parties de la croix de telle façon que l'ensemble du bois a une forme presque quadrangulaire. Les vaisseaux sont polygonaux, l'épaisseur de leurs parois, surtout des plus grands vaisseaux, est très considérable.

Le liber est disposé en quatre paquets aplatis, mais larges, et ces paquets sont séparés l'un de l'autre par les files de vaisseaux. Les cellules libériennes sont polygonales et en général pentagonales, à parois minces. Du péricycle et de l'endoderme il n'y a rien à dire de particulier.

On peut compter jusqu'à huit assises dans le tissu cortical interne. Ces cellules sont larges, basses, à parois un peu épaisses ; la grandeur de ces cellules augmente un peu vers l'extérieur ; ainsi les cellules qui se trouvent du côté de l'écorce externe sont peut-être deux fois plus grandes que les cellules corticales près de l'endoderme.

Dans le tissu cortical externe il y a deux assises de cellules ; celles-ci sont plus petites que les cellules voisines de l'écorce interne. Leur forme diffère aussi de celle des cellules corticales

Digitized by Google

internes ; elles sont plus hautes que larges et elles ont une forme non pas ronde mais ellipsoïdale.

La couche subéreuse est composée par deux assises de cellules un peu plus hautes que larges. Les cellules pilifères sont larges ou presque isodiamétriques.

2° *Culture en serre* (fig. 16, pl. 12).

Le bois primaire présente le type quatre. Chaque file de vaisseaux a de cinq à sept vaisseaux, à parois épaisses. Dans quelques endroits de ces files il y a deux vaisseaux l'un à côté de l'autre. Entre les files de vaisseaux on trouve plusieurs vaisseaux, dont la lumière est plus grande que celle des vaisseaux en files. Au centre du bois on voit quelques cellules qui sont en train de devenir des vaisseaux ; leurs parois sont encore minces et leur grandeur n'a pas atteint les dimensions ordinaires. Le nombre de tous les vaisseaux de la racine est de vingt-cinq.

Le liber est disposé en minces paquets, la longueur des paquets de liber est assez grande de façon que le liber forme presque un cercle entier autour du bois.

Le péricycle est formé par des cellules assez grandes presque isodiamétriques. L'endoderme a ses cellules un peu plus larges que longues ; les parois des cellules endodermiques comme celles des cellules péricycliques sont minces. Le tissu cortical interne est formé par cinq assises de cellules ; la forme de ces cellules est plutôt ellipsoïdale dans la partie plus interne, et plus isodiamétrique vers le tissu cortical externe. La grandeur de ces cellules corticales augmente très rapidement dans la direction de l'intérieur vers l'extérieur de façon que les dimensions des cellules corticales internes qui se trouvent du côté de l'écorce externe sont quatre ou cinq fois plus considérables que celles des cellules du même tissu près de l'endoderme.

L'écorce externe est formée par quatre ou cinq assises, dont les cellules sont plus petites que la plupart des cellules de l'écorce interne. Les cellules corticales externes sont toutes de la même grandeur. Leurs parois sont minces et plus minces que celles des grandes cellules corticales internes qui se trouvent près de l'écorce externe.

Digitized by Google

La couche subéreuse est formée de deux assises de cellules isodiamétriques. Les cellules de l'assise pilifère sont plutôt plus hautes que larges ; leur paroi externe est bombée.

3. — **Bellis perennis** L.

1° *Culture en serre* (fig. 18, pl. 12).

La racine, dont nous faisons la description anatomique, était très jeune au moment où elle a été coupée pour son étude et elle avait à cette époque une structure primaire. Ainsi le bois a la forme d'une croix ; les vaisseaux sont disposés en quatre files : entre les files du bois ont pris place quelques vaisseaux plus grands, trop peu nombreux pour faire disparaître la forme de croix.

Dans chaque file de vaisseaux, il y a cinq ou six vaisseaux dont la plupart à parois assez épaisses. Les vaisseaux ont en général une forme hexagonale. Le liber, qui se trouve entre les files de vaisseaux, forme de petits paquets qui touchent presque immédiatement ces vaisseaux. Dans chaque paquet, le nombre des cellules libériennes est à peu près d'une quinzaine. Ces cellules sont petites, en général pentagonales, à parois minces. Entre les paquets du liber et les files du bois, il y a une partie de rayons médullaires très minces. Les cellules du péricycle et de l'endoderme sont de même forme et presque égales entre elles, cependant les cellules de l'endoderme sont plus aplaties que celles du péricycle.

Le tissu cortical interne est formé de sept assises de cellules ovales, dont la grandeur augmente dans la direction de l'intérieur vers l'extérieur. La grandeur des cellules corticales internes qui sont disposées près du tissu cortical externe est trois ou quatre fois plus considérable que celle des cellules corticales internes qui se trouvent du côté de l'endoderme.

La couche du tissu cortical externe est formée de deux ou trois assises de cellules, dont la grandeur est presque partout la même ; elles sont plus petites que les cellules corticales internes. La couche subéreuse est formée de deux assises de cellules hexagonales, et l'assise pilifère a ses cellules presque isodiamétriques à paroi externe un peu bombée.

Digitized by Google

2° *Culture en plein air* (fig. 17, pl. 12)

Dans la racine de la plante, qui a vécu à l'air libre, le bois a acquis déjà la structure secondaire quoique la plante examinée soit du même âge que celle de la serre. L'ensemble du bois a une forme déjà ronde. Les vaisseaux sont presque tous de même grandeur, sauf quelques-uns qui sont plus grands ; leurs parois sont épaisses et leur forme polygonale. Le liber semble constituer un anneau presque ininterrompu et a ses cellules plus grandes qu'en serre. Le péricycle a de grandes cellules, quelquefois isodiamétriques, quelquefois plus larges que hautes. L'endoderme possède des cellules larges, aplaties et plus petites que celles du péricycle. Le tissu cortical interne compte sept assises nettes très régulièrement disposées ; ces cellules sont grandes, larges et leur grandeur augmente vers l'extérieur. Le tissu cortical externe est constitué par deux assises de cellules plus petites que celles du tissu cortical interne. Après le tissu cortical on aperçoit la couche subéreuse formée de deux assises de cellules. Les cellules subéreuses sont en général d'une forme quadrangulaire, quelquefois pentagonale. Leur grandeur est moins considérable que celle des cellules du tissu cortical externe.

Les cellules de l'assise pilifère sont aplaties, à paroi externe ronde.

En résumé, on voit que dans la serre la racine conserve sa structure primaire plus longtemps qu'en plein air ; mais les vaisseaux primaires, en serre, sont plus nombreux et leurs lumières sont aussi plus larges. Le liber, dans la serre, est disposé en paquets isolés, tandis, qu'en plein air, les diverses parties du liber se rapprochent beaucoup l'une de l'autre.

Le tissu cortical interne est plus épais en serre qu'en plein air, mais les assises de l'écorce externe sont plus nombreuses en plein air.

(A suivre)

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Réduction chromatique dans le sporange des Cryptogames vasculaires. — L'homologie des cellules-mères des spores des Cryptogames vasculaires avec les cellules-mères polliniques, est confirmée par les travaux récents.

D'après Calkins (1), le nombre réduit de chromosomes existe dans les mitoses des cellules-mères des spores chez les Fougères (*Pteris tremula*, *Adiantum cuneatum*). Il y a deux divisions successives à caractère particulier, d'où résultent 4 spores.

Stevens (2) a observé la formation des cellules-mères des spores aux dépens de la cellule primordiale chez *Scolopendrium*, *Cystopteris*, *Pteris aquilina*. Le nombre réduit (32 au lieu de 64 chez *Scolopendrium*), n'apparait qu'au moment de la première division des cellules-mères.

Strasburger (3) décrit la première mitose des cellules-mères chez *Osmunda regalis* comme hétérotypique et la seconde comme homoeotypique. Le nombre de chromosomes réduit se montre pour la première fois lors de la division des cellules-mères des spores et se conserve dans le prothalle.

Goebel (4) résumant ses recherches sur les sporanges des Cryptogames vasculaires, déclare que les spores se forment toujours de la même façon. Elles naissent par 4 dans une cellule-mère qui subit deux divisions successives à nombre réduit de chromosomes. Lorsqu'il existe des micro- et des macrosporanges, ces derniers ne possèdent souvent qu'un nombre très restreint de spores. Chez *Salvinia* et les Marsiliacées, les cellules-mères subissent la division en tétrade, mais une seule macrospore arrive à maturité. Chez *Selaginella*, il se forme 4 macrospores en tétrade, les autres cellules-mères demeurent stériles et indivises pour servir à leur nutrition.

Fuseau achromatique. — Meves (5) résume les faits connus chez les

(1) Calkins : *Chromatinreduction and tetradformation in Pteridophytes* (Bull. Torrey bot. Club, t. 24, 1897).

(2) Stevens : *Ueber Chromosomentheilung bei den Sporenbildung der Farne* (Ber. deutsch, bot. Ges., t. 16, 1898).

(3) Strasburger : *Reduktionstheilung, etc.*, Jena, 1900.

(4) Goebel : *Organographie der Pflanzen*, Jena ((G. Fischer), 1901. — *Archegoniaten Studien* (plusieurs articles dans Flora).

(5) Meves : *Zelltheilung* (Anat. Ergebn., t. 6, 1898).

Digitized by Google

animaux et les végétaux et montre que le fuseau est, suivant les cas, d'origine protoplasmique, nucléaire ou mixte. Les fibres sont tantôt continues d'un pôle à l'autre, tantôt discontinues. Le fuseau peut être entièrement formé de l'une ou l'autre catégories de fibres (fuseau homogène) ou des deux associées (fuseau hétérogène). Les fibres continues peuvent être au centre et les fibres discontinues à la périphérie ou *vice versa* ; les deux sortes de fibres peuvent être entremêlées. Un fuseau homogène peut devenir hétérogène, par adjonction de fibres discontinues (c'est le cas habituel chez les végétaux).

Nemec (1) admet une différence fondamentale entre les cellules végétatives et les cellules reproductrices. Le fuseau serait bipolaire dans les premières, l'organe étant bipolaire. Il serait multipolaire dans les secondes, les cellules reproductrices étant relativement indépendantes des tissus adjacents. Nous verrons que, si cette différence existe fréquemment, l'opposition n'est pas aussi marquée que le suppose Nemec et qu'il existe des intermédiaires (fuseaux à deux ou plusieurs arches).

Nemec (2) décrit la formation du fuseau dans le sommet végétatif des racines (*Allium Cepa*, *Hemerocallis fulva*, *Roripa amphibia*). Le fuseau se forme, comme l'a dit Rosen (1896), aux dépens de deux calottes kinoplasmiques hyalines situées aux pôles du noyau. Cependant les fibres extérieures (fibres du manteau) se différencient dans le protoplasme ambiant. La membrane nucléaire disparaît au stade de la plaque équatoriale, les nucléoles participent à la formation du fuseau. Au voisinage du pôle, peuvent se trouver des corpuscules entourés d'une radiation. Ce ne sont pas des centrosomes, mais des nucléoles sortis du noyau, des leucocytes ou des granulations protoplasmiques. Nemec (3) retrouve dans le sommet de la tige et de la racine de *Solanum tuberosum* le type de la division végétative. Le noyau est entouré d'une zone de protoplasme granuleux, le *périplaste*, dans laquelle sont différenciés deux capuchons polaires d'où partent les fibres de deux demi-fuseaux se rejoignant à l'équateur. Dans le tubercule, aux endroits blessés, les choses se passent autrement. Il n'y a pas de périplaste ou celui-ci est trop réduit pour qu'on puisse le voir ; les fibres naissent beaucoup plus directement de la surface du noyau. Cela tient sans doute à la grosseur du noyau, beaucoup plus volumineux que dans les méristèmes.

(1) Nemec : *Ueber die Ausbildung der achromatischen Kerntheilungsfiguren im vegetativen und Fortpflanzungs-Gewebe der höheren Pflanzen* (Bot. Centralbl., t. 74. 1898). — *Zur Physiologie der Kern-und Zelltheilung* (Id., t. 77, 1899).

(2) Nemec : *Rech. cytologiques sur le point végétatif des plantes* (en tchèque, avec résumé all. in Sitzb. böhm. Ges. Wiss., 1897). — *Ueber die karyokine, tische Kerntheilung in der Wurzelspitze von Allium Cepa* (Jahrb. wiss. Bot., t. 33, 1899).

(3) Nemec : *Ueber Kern und- Zelltheilung bei Solanum tuberosum* (Flora, t. 86, 1899. — *Neue cytologische Untersuchungen* (Fünfstücks Beitr. w. B., 1900).

Digitized by Google

D'après Hof (1), dans le sommet des racines des Fougères, d'*Ephedra major*, de *Vicia Faba*, la formation du fuseau est bipolaire ou en tonnelet monaxial (les fibres ne se réunissent pas toutes en un même point et forment plusieurs petits faisceaux parallèles; c'est ce que l'auteur nomme type *monaxial-multipolaire* et Strasburger type *multipolaire-diarche*, comme dans la fig. 35). Les nucléoles contribuent à la formation du fuseau. Le fuseau bipolaire peut se résoudre, au stade de la plaque équatoriale, en plusieurs petits faisceaux (parfois une moitié du fuseau est seule ainsi modifiée).

Schaffner (2) donne des descriptions analogues (racine d'*Allium Cepa*, tubercule d'*Erythronium*), Fullmer (3) aussi (germinations de *Pinus Laricio* et *P. silvestris*).

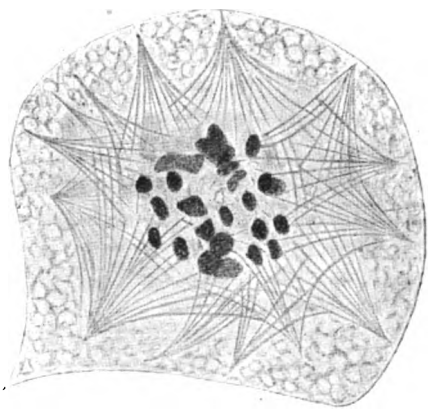


Fig. 35. — Fuseau multipolaire-polyarche (d'après Osterhout).

Strasburger (4) décrit avec précision l'apparition du fuseau dans *Ephedra*. Avant la prophase, se rassemble autour du noyau une mince couche de protoplasme hyalin, puis finement fibrillaire Les fibrilles se colorent d'abord en brun par le triple colorant de Flemming (5). Cette enveloppe est plus épaisse aux pôles que partout ailleurs. Là apparaît entre elle et la membrane du noyau un liquide semblable au suc nucléaire. Les fibres nées de la calotte croissent dans cette cavité, elles sont extranucléaires et convergentes vers le pôle. Elles atteignent bientôt la membrane nucléaire qui dispa-

(1) Hof : *Histologische Studien an Vegetationspunkten* (Bot. Centralbl., t. 76, 1898).

(2) Schaffner : *Karyokinesis in the root tips of Allium Cepa* (Bot. Gaz., t. 26, 1898). — *A contribution to the life history and cytology of Erythronium* (*Id.* t. 31, 1901).

(3) Fulmer : *Cell division in Pine seedlings* (Bot. Gaz., t. 26, 1898).

(4) Strasburger : *Ueber Reduktionstheilung, etc.*, Jena, 1900.

(5) Le triple colorant de Flemming — safranine, violet de gentiane, orange — semble jouir de la faveur universelle dans les recherches cytologiques. On en trouve la formule, avec les modifications introduites par Strasburger dans le *Botanische Prakticum* de ce dernier.

Digitized by Google

rait alors et pénètrent dans l'intérieur du noyau. Dès ce moment les fibres se colorent en violet, ce qui porte à croire qu'elles ont incorporé la substance nucléolaire Elles se fixent soit aux chromosomes, soit aux fibres du pôle opposé. Il n'y a pas lieu de maintenir la distinction de Nemec en fibres du manteau et fibres centrales. Même processus pour la racine de la Fève, mais les fibres ne convergent pas au même point et forment un faisceau multipolaire diarche.

Des fuseaux de cette dernière forme se retrouvent dans les tissus de l'ovule et de l'anthère (Mottier, 1). Mais souvent le kinoplasme est moins abondant et l'ébauche du fuseau est entièrement intranucléaire. Au moment où apparaissent les fibres dans la cavité nucléaire, le nucléole est dissous et les fibres prennent la teinte violette avec le triple colorant. La membrane du noyau prend aussi une structure fibrillaire et une coloration violette. Dans la tige du Gui, Strasburger constate les mêmes faits.

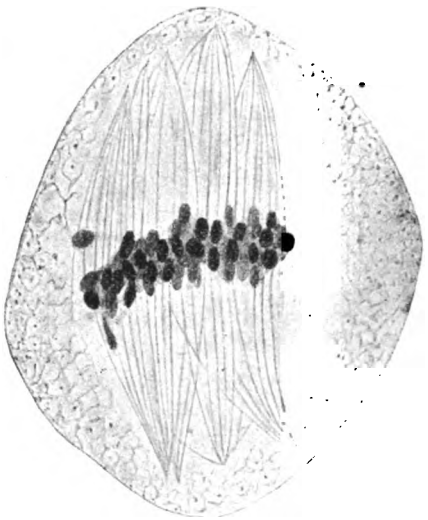


Fig. 36. — Fuseau multipolaire-diarche (d'après Osterhout).

Dans les cellules-mères reproductrices, le fuseau est le plus souvent multipolaire. D'après Strasburger, dans le pollen de *Iris squalens*, le premier fuseau est *multipolaire polyarche* et extranucléaire (fig. 35), le deuxième *multipolaire diarche* et intranucléaire. C'est là le cas général. Cependant l'auteur cite des exceptions. Chez *Nymphoea alba*, les fuseaux des deux divisions atypiques du pollen sont de forme diarche, ce qui paraît dû à l'excentricité du noyau déjà signalée par Guignard.

De nombreux auteurs se sont occupés de la formation du fuseau dans la division des cellules-mères.

Osterhout (2) figure des fuseaux à pôles nombreux dans les cellules-mères des spores chez *Equisetum*. Autour du noyau s'accumule

(1) Mottier : *Beiträge zur Kentniss der Kerntheilung in den Pollenmutterzelle einige Dicotylen und Monocotylen* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897). — *Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwickelung des Embryosacks, etc.* (Id., t. 31, 1898).

(2) Osterhout : *Ueber Entstehung der karyokinètischen Spindel bei Equisetum* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

Digitized by Google

du protoplasme contenant un feutrage de fibres dirigées en tous sens. Ces fibres deviennent parallèles à la membrane nucléaire et se réunissent par groupes. Après la dissolution de la membrane, elles pénètrent dans le noyau. Le fuseau devient bipolaire par disparition de certaines arches et fusion des autres (fig. 35, 36, 37).

Dans *Osmunda regalis*, le fuseau est d'emblée bipolaire (Wilson Schmitt), (1). Les granulations plasmiques se disposent en rangées parallèlement à la surface du noyau.

Quant aux cellules-mères du pollen et du sac embryonnaire, Farmer et Belajeff avaient décrit les premiers des fuseaux multipolaires chez *Lilium* et *Larix*. Mottier (l. c.) les retrouve dans *Lilium* et *Podophyllum*. Guignard (2) déclare avoir observé souvent des fuseaux multipolaires chez *Nymphoea*, *Nuphar*, *Magnolia*; ils paraissent précéder normalement la formation du fuseau bipolaire chez *Limodorum*. Lawson (3) en signale chez *Cobæa* et *Gladiolus*, Willams (4) chez *Passiflora*, Duggar (5) chez *Symplocarpus* et *Peltandra* (stade synapsis, 1er fuseau multipolaire, puis bipolaire, le nucléole disparu à la première mitose ne reparaît qu'après la deuxième), Byxbee (6) chez *Lavatera* (autour du noyau, réticulum plasmique fibreux dont les mailles s'organisent en fuseau multipolaire, puis

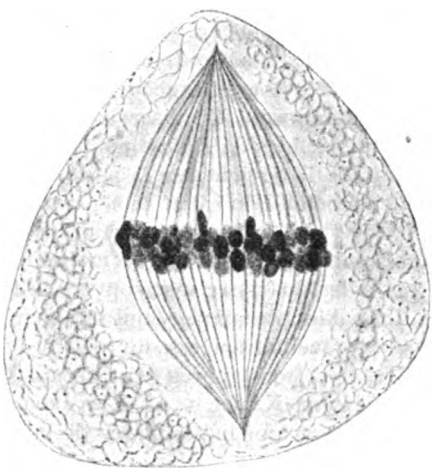


Fig. 37. — Fuseau bipolaire (d'après Osterhout).

(1) Wilson Schmitt : *The achromatic spindle in the spore mother cells of Osmunda regalis* (Bot. Gaz., t. 30, 1900).

(2) Guignard : *Les centres cinégétiques chez les végétaux* (Ann. Sc. nat. Bot., 8e S., t. 5, 1898).

(3) Lawson : *Some observations on the development of the karyokinetic spindle in the pollen mother cells of Cobaea scandens* (Proc. California Ac. Sc., 1898). — *Origin of the cones of the multipolar spindle in Gladiolus* (Bot. Gaz., t. 30, 1900).

(4) Williams : *The originin of the karyokinetic spindle in Passiflora coerulea* (Proc. California Ac. Sc., 1898).

(5) Duggar : *Studies on the development of the pollen grains of Symplocarpus foetidus and Peltandra undulata* (Bot. Gaz., t. 29, 1900).

(6) Byxbee : *The development of the karyokinetic spindle in the pollen mother cells of Lavatera* (Proc. California Ac. Sc., 1900).

Digitized by Google

bipolaire, même processus aux deux mitoses). ALLEN (1) signale chez *Larix* la présence d'un stade réticulé précoce du protoplasme enveloppant le noyau. Ce réticulum se transforme en un feutrage de filaments, puis en fuseau multipolaire devenant bipolaire.

Cependant dans la Sagittaire, le fuseau multipolaire n'apparaîtrait, d'après SCHAFFNER (1. c.) que dans des cas pathologiques ou à la suite des manipulations. Chez *Hemerocallis fulva*, le fuseau est dès l'origine bipolaire (FULLMER, 2).

On a constaté aussi le développement inégal des deux arches des fuseaux. MURRILL (3) décrit, dans *Tsuga canadensis*, au moment de la formation de la cellule du canal de l'archégone, l'accumulation unilatérale du protoplasme au pôle inférieur du noyau ; c'est de là que partent les fibres ; elles pénètrent ensuite dans la cavité nucléaire et se rencontrent avec des fibres beaucoup plus courtes nées du pôle supérieur.

Miss FERGUSON (4) observe, lors de la division de la cellule-mère des anthérozoïdes de *Pinus*, un fuseau extranucléaire, unipolaire, très développé ; il devient par la suite bipolaire. Au moment où, dans l'ovule, la cellule du canal se sépare du noyau de l'oosphère, la moitié supérieure du fuseau est fortement évasée vers la membrane de l'archégone, tandis que l'autre moitié forme une arche ordinaire.

Les pôles du fuseau sont souvent reliés à la membrane cellulaire par des fibres kinoplasmiques, qui semblent destinées à maintenir la figure en place : cellules-mères du pollen (*Larix*, Belajeff ; *Podophyllum*, Mottier, 1. c.), des spores (*Equisetum*, Osterhout, 1. c.), sommet de la racine (*Allium*, Nemec, 1. c.). Il en existe aussi dans les cellules au repos unissant le noyau à la péripherie de la cellule (épiderme de *Hyacinthus*, Miehe, 1 c.).

JUEL (5) trouve dans les cellules-mères polliniques de *Hemerocallis* que les fibres n'atteignent pas la membrane cellulaire mais s'arrêtent à une zone plus dense du protoplasme.

LAWSON (1. c.) décrit également, dans les mêmes cellules chez *Cobæa* et *Gladiolus*, une région plasmique dense qu'il nomme *péricaryoplasme*, limitant une sorte de cavité dans laquelle est suspendu le fuseau multipolaire, puis bipolaire.

(1) Allen : *Spindle formation to the pollen mother cells of Larix* (Science, 1902).

(2) Fullmer : *The development of the microsporangia and microspores of Hemerocallis fulva* (Bot. Gaz., t. 28, 1899)

(3) Murill : *The development of the archegonium and fertilization in the Hemlock Spruce (Tsuga canadensis)* (Ann. of Bot., t. 14, 1900).

(4) Margareth Ferguson : *Development of the pollen tube and the division of the generative nucleus in Pines* (Ann. of Bot., t. 15, 1901). — *The development of the egg and fertilization in Pinus Strobus* (Ann. of Bot., t. 15, 1901).

(5) Juel : *Die Kerntheilungen in den Pollenmutterzellen von Hemerocallis fulva* (Jahrb. wiss Bot., t. 30, 1897).

Digitized by Google

Osterhout (1) observe, chez *Agave*, que le fuseau est enclos dans une membrane spéciale d'origine protoplasmique. Les fibres sont d'abord rayonnantes autour du noyau et non feutrées. Elles deviennent longitudinales pour former le fuseau. La deuxième mitose ne présente rien de comparable.

Nucléole. — Nous venons de voir la plupart des observateurs considérer le nucléole comme prenant part à la formation du fuseau. Strasburger (2) le regarde comme une réserve de kinoplasme. Le nucléole disparaît au temps de la formation du fuseau et à ce moment les fibres prennent la teinte violette avec le triple colorant de Flemming. A ce moment aussi, dans la cavité du noyau jusque-là incolore, se montrent des fibres se colorant en violet. Le nucléole se reforme lors de la disparition de la coloration violette du fuseau et de la régression de ses fibres. Dans le sac embryonnaire de *Lecoium* et de *Galanthus*, une faible partie du nucléole se dissout pour servir à l'ébauche du fuseau, le reste forme des nucléoles en dehors du noyau ou demeure à l'état non dissous, soit entre les chromosomes, soit accolé à ceux-ci comme des excroissances.

Nemec (l. c.) dans le méristème des racines d'*Hemerocallis* et de *Roripa*, voit les fibres extérieures du fuseau se condenser à l'anaphase en une masse granuleuse qui devient le nucléole du noyau-fils. Il attribue la même origine à des nucléoles extranucléaires que l'on aperçoit parfois près de la cloison en formation après la mitose, surtout sous l'influence d'un abaissement de température. Demoor (1895) avait déjà obtenu, sous l'action du froid, des nucléoles extranucléaires dans les poils staminaux de *Tradescantia*. Hottes en obtient par le même procédé. Karsten en a décrit dans le tissu sporogène de *Psilotum triquetrum* ; là ils ont toute l'apparence de centrosomes par leur position au moment de la caryokinèse. Debski (3) voit, dans le sommet végétatif des *Chara*, des nucléoles extranucléaires se rassembler aux pôles au moment de la division ; l'auteur pense qu'il existe normalement des nucléoles dans le protoplasme.

Certains nucléoles renferment de la chromatine. En 1884, Carnoy distinguait déjà, à propos des *Spirogyra*, des nucléoles-nucléiniens et et des nucléoles-noyaux. Noll (1893) et Mizkewitch (4) déclarent que les nucléoles de *Spirogira* se comportent dans la caryokinèse comme des chromosomes. Van Wisselingh (5) confirme que les nucléoles fournissent deux éléments de la plaque nucléaire, les autres éléments

(1) Osterhout : *Spindle formation in Agave* (Proc. California Ac. Sc., 1902).

(2) Strasburger : *Ueber Reduktionstheilung, etc.* (Jéna, 1900).

(3) Debski : *Beobachtungen über Kerntheilung bei Chara fragilis* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(4) Mitzkewitsch : *Ueber die karyokinetische Theilung der Zellkerne bei Spirogyra* (aus den bot. Inst. Warschauer Univers. 1897 et Flora, 1898).

(5) Van Wisselingh : *Ueber den Nucleolus von Spirogyra*, etc. (Bot. Ztg, 1898).

Digitized by Google

étant des chromosomes. Ces nucléoles sont constitués de la substance habituelle des nucléoles (*plastine* de Carnoy, Zacharias, etc.) et de chromatine. Hertwig (1) décrit dans *Actinosphoerium Eichhorni* des nucléoles formés de plastine et de chromatine. Ces exemples suffisent à montrer que les nucléoles des organismes inférieurs peuvent renfermer de la chromatine.

Cavara (2) a signalé des nucléoles ainsi constitués chez les plantes supérieures. Ces nucléoles sont formés d'une partie centrale peu colorable (plastine) destinée à passer dans les fibres du fuseau et d'une couche externe plus ou moins dense, souvent spongieuse, plus colorable, comparable à la chromatine. Cette dernière s'incorpore aux chromosomes au moment de la division nucléaire. A l'anaphase, le nucléole se reforme.

Longo (3) engage, avec l'auteur précédent, une vive polémique. Il n'y a pas de dissolution partielle de la chromatine et de dépôt chromatique autour du nucléole. Les nucléoles sont constitués de la substance nucléolaire ordinaire, le centre est une vacuole.

Cavara (4) maintient ses premières affirmations. Il décrit dans le gros noyau du sac embryonnaire de *Lilium candidum* un nucléole auquel est annexé un petit corps sphérique peu colorable, présentant avec le nucléole des rapports variés, parfois même totalement isolé. Ce serait là une séparation des deux parties du nucléole. Le corps falciforme de Zimmermann (1896) serait la partie centrale sortie du nucléole.

Chamberlain (5) décrit aussi des nucléoles à chromatine dans le noyau de l'oosphère chez *Pinus Laricio*. Mᵉ Gardner (6) déclare qu'il y a passage de la substance nucléolaire sur le spirème et à l'anaphase reconstitution du nucléole par le filament chromatique; le nucléole a autant d'importance que les chromosomes dans la transmission des caractères héréditaires.

Hottes (l. c.) a vu, dans le sommet de la racine de la Fève, le réseau chromatique se condenser autour du nucléole. Une partie de la substance nucléolaire sort parfois de cette enveloppe.

Paratore (7), étudiant les cellules envahies par les Bactéries dans

(1) Hertwig : *Ueber Kerntheilung Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni* (Abh. k. bayr. Ak. wiss., t. 19, 1898).

(2) Cavara : *Intorno ad alcune struttura nucleolari* (Atti R. Ist. bot. Uni. Pavia, 2ᵉ S., t. 5 1898). — *Brevi osservationi alla critica*, etc. (Firenze, 1898).

(3) Longo : *Esiste cromatolisi nei nuclei normali vegetali?* Rendiconti R. Ac. dei Lincei. t. 7, 1898). — *Ancora sulla prestessa " cromatolisi " nei nuclei normali vegetali* (Roma, 1898).

(4) Cavara : *Breve contribuzioni alla conoscenza del nucleolo* (Boll. Soc. bot. It. Roma 1902).

(5) Chamberlain : *Oogenesis in Pinus Laricio* (Bot. Gaz., t. 27, 1899).

(6) Blanche Gardner : *Studies on growth and cell division in Vicia Faba.* (Public. Univ. Pensylvania, Bot. Laboratory, 1901).

(7) Paratore : *Ricerche sulla struttura e le altèrazioni del nucleolo nei tubercoli delle Leguminose* (Malpighia, 1901).

Digitized by Google

les tubercules des Légumineuses, considère le nucléole comme un centre d'échange matériel de la chromatine.

Centrosome et sphère directrice. — STRASBURGER (1) n'admet l'existence de centrosomes que chez les plantes cellulaires. Il y a deux types de centrosphères : 1° accumulation kinoplasmique au moment de la division, avec centrosome net, arrondi, en bâtonnet ou en haltère, chez *Fucus* (2), *Sphacelaria*, SWINGLE, (3) ; 2° amas kinoplasmique disciforme, persistant (*centroplaste*), sans centrosome central chez les Ascomycètes (Harper, 4). Ailleurs il n'y a rien aux pôles. Les trois cas ont été retrouvés chez d'autres plantes. Chez les Cryptogames cellulaires, la masse de trophoplasme prédomine; aussi le kinoplasme se sépare-t-il en se centralisant sous forme de centrosphère, au moment de la mitose. Chez les plantes vasculaires, c'est le kinoplasme qui est prépondérant ; la division est réglée par le jeu d'un grand nombre de filaments remplissant la majeure partie de la cellule; le processus est fondamentalement différent et il n'existe pas de centrosome.

GUIGNARD (5) croit au contraire à l'existence de centrosomes chez tous les végétaux. Mais centrosomes, sphères directrices ou attractives, centrosphères, etc., peuvent présenter tous les degrés possibles de différenciation, comme chez les animaux, où d'ailleurs ils ne sont pas toujours visibles (diverses cellules pigmentaires). Le principal argument de Strasburger est la multipolarité de beaucoup de fuseaux. Mais chez *Pellia* de l'aveu même de Strasburger et chez les animaux, il existe des fuseaux multipolaires avec centromoses. Guignard a le premier signalé aux pôles des fuseaux multipolaires de *Nymphoea* et *Limodorum* de petits corps en rapport avec les fibres du fuseau, corps retrouvés par d'autres observateurs. Ces granules sont probablement de nature centrosomienne. Dans le protoplasme on voit des granulations à réactions nucléolaires et cela au moment où le nucléole est encore intact. La striation polaire, rarement visible avant la métaphase, apparaît souvent après ce stade et même on voit des fibres achromatiques partant des pôles et se dirigeant autour du fuseau dans le protoplasme, ce qui semble impliquer la présence de centres dynamiques aux pôles. Les blépharoplastes des Fougères, des Cycadées et du *Ginkgo* sont probablement aussi des centrosomes.

Depuis lors la question ne s'est pas éclaircie. Nemec, Grégoire (6),

(1) Strasburger : *Ueber Cytoplasmastrukturen. Kern-und Zelltheilung* (Jahrb, wiss. Bot., t. 30, 1897).
(2) Strasburger : (Jahrb wiss. Bot., t. 30, 1897).
(3) Schwingle : (Jahrb wiss. Bot., t. 30, 1897).
(4) Harper : Année biologique 1897.
(5) Guignard : *Les centrosomes chez les végétaux* (C. R. Ac. Sc., t. 125. 1897). — *Les centres cinétiques chez les végétaux* (Ann. Sc. nat. Bot., 8° S., t. 6, 1898)
(6) Grégoire . *Les cinèses polliniques dans les Liliacées* (La Cellule, t. 16, 1899).

Digitized by Google

Lawson, W. Schmitt, Allen, etc. (cités d'autre part) nient l'existence de centrosomes. OSTERWALDER (1) décrit des centrosomes chez *Aconitum Napellus*. Ch. BERNARD (2) déclare en avoir observé chez *Lilium candidum* et *Helosis Guyanensis*, YAMANOUCHI (3) chez *L. longiflorum*, COULTER (4) chez *L. philadelphicum*, FULMER chez *Hemerocallis*. Belajeff identifie les blépharoplastes des Fougères avec des centrosomes, Shaw se refuse à admettre cette homologation. Les blépharoplastes des Cycadées et du *Ginkgo* sont des centrosomes pour Hirase et Ikéno, ils n'ont aucun rapport avec des centrosomes pour Webber (Voir anthérozoïdes).

NEMEC (5) admet deux groupes de vrais centrosomes, en relation avec les figures achromatiques : 1° centrosomes persistants, pouvant être indépendants du noyau et séparés de lui ; 2° centrosomes transitoires, dérivés de la substance nucléaire. Mais chez les plantes vasculaires, il n'y a pas de vrais centrosomes ; les corps semblables à des centrosomes que l'on y observe se groupent en deux séries : 1° corps existant déjà dans la cellule au repos et se plaçant aux pôles lors de la division. Ils n'ont aucun rôle dans la formation du fuseau multipolaire diarche, puisque certains de ces fuseaux existent en leur absence (sommet des racines chez *Blechnum*, *Diplazium*, *Alnus glutinosa*) ; 2° corps ne laissant pas de trace dans la cellule au repos, mais se montrant aux pôles lors de la mitose. Tantôt ils se différencient directement dans le cytoplasme aux pôles mêmes à la fin de la prophase et ne dérivent pas du nucléole (racine de *Dracoena*) Tantôt ils apparaissent par transformation des fibrilles achromatiques en corpuscules situés aux pôles à la fin de la métakinèse et ressemblent à de petits nucléoles arrondis (racine d'*Allium Cepa*, d'*Hibiscus*). Tantôt ce sont des masses irrégulières formées après la métakinèse par transformation des fibres du fuseau (cellules-mères polliniques de *Nymphoea alba*, d'après Strasburger).

(1) Osterwalder : *Beiträge zur Embryologie von Aconitum Napellus* L. (Flora, 1898).

(2) Charles Bernard : *Rech. sur les sphères attractives chez Lilium candidum. Helosis guyanensis, etc.* (Journ. de Bot., t. 14, 1900).

(3) Yamanouchi : *Einige Bemerkungen über die Centrosomen in den Pollenmutterzellen von Lilium longiflorum* (Beih. Bot. Centralbl., t. 10, 1901).

(4) Coulter : *Contribution to the life history of Lilium philadelphicum* (Bot. Gaz., t. 23, 1897).

(5) Nemec : *Ueber centrosomähnliche Gebilde in vegetativen Zellen der Gefässpflanzen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 19, 1901).

(*A suivre*). H. RICÔME.

450 — Lille, imp. LE BIGOT FRÈRES. Le Gérant, Th. CLERQUIN.

Digitized by Google

INFLUENCE D'UNE FAIBLE PRESSION D'OXYGÈNE

SUR LA STRUCTURE ANATOMIQUE DES PLANTES

par M. Jean FRIEDEL

J'ai fait une série de recherches sur l'influence de l'oxygène sur le verdissement des plantes. Dans une communication à l'Académie (1) et dans une note à la Société Botanique (2), j'en ai indiqué les principaux résultats. Je m'étais servi de germinations de différentes plantes cultivées soit dans l'air raréfié, soit dans un air pauvre en oxygène, et comparées à des plantes témoins placées à la pression normale.

On était conduit tout naturellement à se demander si ces plantes présentaient des modifications anatomiques corrélatives, des modifications extérieures portant sur la coloration.

En présence de peu d'oxygène, les plantes verdissent faiblement ; elles peuvent même, si la quantité de ce gaz dont elles disposent est très petite, rester complètement étiolées à la lumière. Il y avait donc un certain intérêt à comparer, au point de vue anatomique, les végétaux développés dans ces conditions spéciales, d'une part avec les plantes normales cultivées à la lumière et à la pression atmosphérique, d'autre part avec les plantes étiolées à l'obscurité.

Les expériences ont porté sur des germinations de *Lepidium sativum*, *Polygonum Fagopyrum*, *Ervum Lens* et *Phaseolus multiflorus*.

Lepidium sativum.

Je me suis servi du cresson alénois (*Lepidium sativum*) pour une grande partie de mes expériences sur le verdissement. Des graines

(1) Comptes-rendus, 8 décembre 1902. — Formation de la chlorophylle dans l'air raréfié, etc.

(2) Société Botanique, tome LI, 12 février 1904.

Digitized by Google

de cresson ensemencées sur des bouchons de liège humides, placés au fond d'éprouvettes de 250 à 300 cmc. étaient mises en germination à l'obscurité. Quand les plantules avaient de 2 à 3 centimètres, les éprouvettes étaient reportées à la lumière : dans l'une l'air était raréfié, l'autre était maintenue à la pression normale. Si la pression est assez faible, le cresson verdit peu. L'étude anatomique n'a pas montré de différence très marquée entre les plantes témoins ayant pris leur couleur verte normale, les plantes étiolées et les plantes

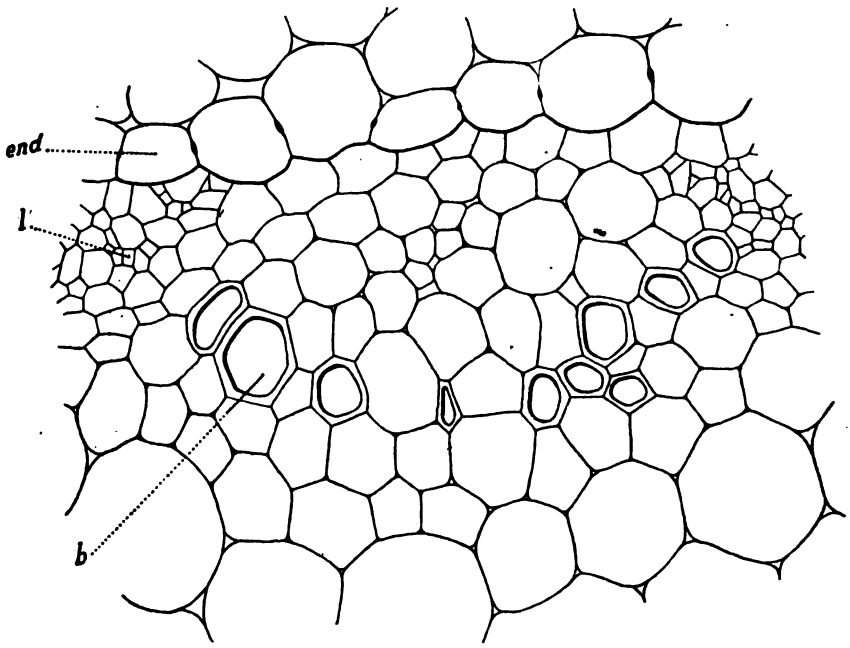


Fig. 38. — Sarrasin témoin. Endoderme, région péricyclique, bois et liber.

maintenues dans l'air très raréfié. D'une manière générale la lignification est un peu plus avancée dans les conditions normales qu'à l'obscurité ou dans l'air raréfié. La structure est toujours à peu près la même, pourtant à l'obscurité, ou à une faible pression, le rapport entre le diamètre du cylindre central et l'épaisseur moyenne de l'écorce est, d'ordinaire, un peu moindre que dans les conditions normales.

Les autres végétaux étudiés ont présenté des différences beaucoup plus nettes.

Digitized by Google

POLYGONUM FAGOPYRUM.

De jeunes plantules de sarrasin (*Polygonum Fagopyrum*), obtenues en faisant germer des graines sur de la ouate imbibée de liquide de Knop, ont été mises en expérience le 16 janvier 1904.

Il y avait deux lots d'une dizaine de plantes chacun. L'un d'eux a été placé dans une cloche de 2 litres environ, à une pression de $\frac{1}{7}$ d'atmosphère. L'autre lot qui servait de témoin était dans une

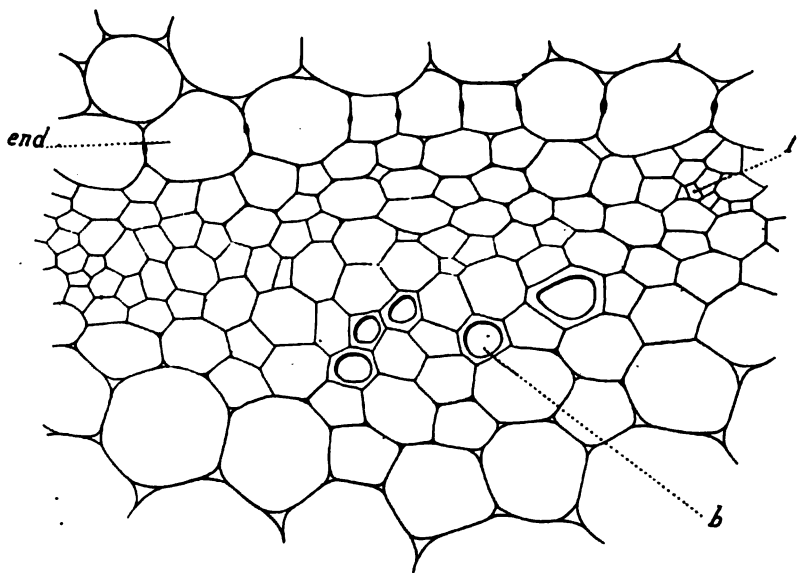


Fig. 39. — Sarrasin étiolé.

cloche semblable à la pression normale. Le 2 février, les cotylédons des plantes témoins étaient frangement verts, ceux des plantes cultivées dans l'air raréfié étaient restés jaunes.

L'expérience a été arrêtée le 11 février. J'ai fait des coupes dans l'axe hypocotylé. Soient : C le diamètre moyen du cylindre central, E l'épaisseur moyenne de l'écorce. Les dimensions relatives étant ici la seule chose à considérer, les mesures ont été prises sur des dessins faits à la chambre claire. Voici quelques valeurs numériques déterminées d'après des coupes pratiquées dans le milieu de l'axe hypocotylé :

Digitized by Google

Plantes témoins : $C = 7.5$ $E = 1,17$ $\frac{C}{E} = 6,41.$

$C = 8,1$ $E = 1,3$ $\frac{C}{E} = 6,2.$

$C = 9$ $E = 1,47$ $\frac{C}{E} = 6,12.$

Plantes mises dans l'air raréfié : $C = 9$ $E = 2,22$ $\frac{C}{E} = 4,05.$

$C = 8,5$ $E = 1,92$ $\frac{C}{E} = 4,37.$

Un grand nombre de coupes ont donné des résultats du même ordre : le rapport $\frac{C}{E}$ est toujours plus facile chez les plantes cultivées dans l'air raréfié que chez les plantes témoins. La lignification présente un retard manifeste dans l'air raréfié.

Le 8 mars, j'ai comparé la structure anatomique de plantules de sarrasin qui avaient germé les unes à l'obscurité, les autres à la lumière.

Chez les plantes étiolées, la lignification est un peu moindre que chez les plantes développées à la lumière. Voici quelques valeurs numériques déterminées d'après des coupes pratiquées dans le haut de l'axe hypocotylé.

Obscurité : $C = 6,45$ $E = 1,4$ $\frac{C}{E} = 4,61$

Lumière : $C = 8,15$ $E = 1,5$ $\frac{C}{E} = 5,43$

La structure de l'axe hypocotylé des jeunes plantes de sarrasin cultivées dans l'air raréfié a de grandes analogies avec la structure de l'axe hypocotylé des plantes étiolées.

L'écorce présente un développement relatif plus considérable que chez la plante témoin ; les cellules de l'écorce ont d'ordinaire des formes plus irrégulières, elles sont un peu plus grandes. La région péricyclique moins différenciée a sensiblement le même développement que chez la plante étiolée (voir fig. 38, 39, 40).

Par tous ses caractères anatomiques, la plante maintenue dans l'air raréfié se rapproche de la plante étiolée, comme elle s'en rapproche par l'absence de chlorophylle. Au point de vue du port

Digitized by Google

du végétal, les plantules de sarrasin utilisées ne présentaient pas de particularités bien saillantes.

Voici, à titre d'indication, les longueurs des axes hypocotylés d'un certain nombre de plantes prises au hasard dans les divers lots qui ont servi aux deux expériences précédemment exposées.

Expérience arrêtée le 11 février.

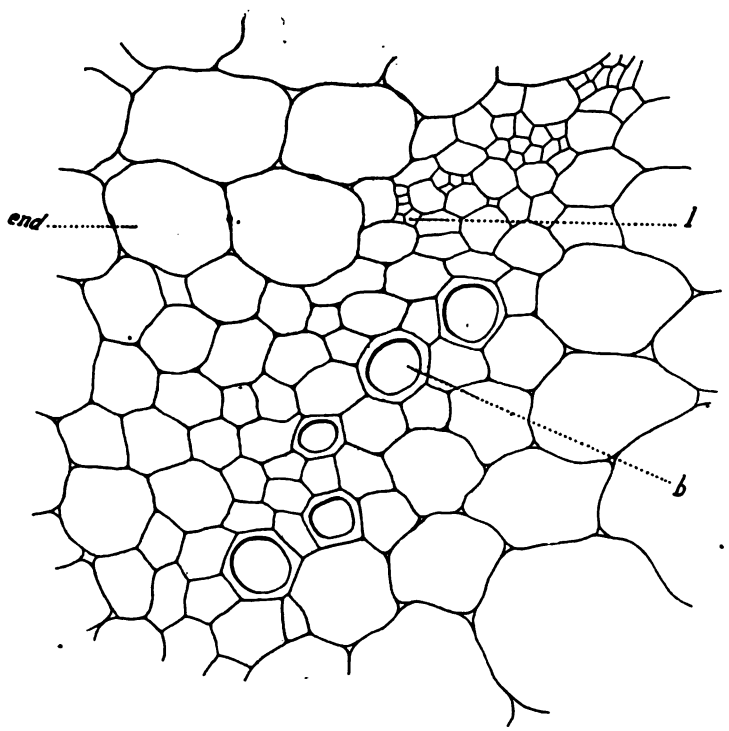


Fig. 40. — Sarrasin placé dans l'air raréfié.

Lumière	Pression normale.	— 5cm, — 5,5 — 5,7 — 4,5 — 6,5, etc.
	Air raréfié.	— 3 — 2,5 — 2,5 — 4 — 1,9.

Expérience arrrêtée le 8 mars.

Pression normale	Lumière.	— 3,8 — 2,5 — 1,6 — 1,5...
	Obscurité.	— 3,2 — 4,6 — 5,8 — 3,3...

ERVUM LENS.

De très nombreuses expériences faites sur la lentille (*Ervum*

Digitized by Google

Lens) ont montré un certain nombre de particularités portant soit sur la morphologie extérieure, soit sur la structure anatomique.

Une expérience installée le 13 janvier 1904 avait pour but principal de chercher à séparer l'action de la pression relative et celle de la quantité absolue d'oxygène sur le verdissement. J'avais quatre lots de plantules : le premier était placé dans une éprouvette de 250 à 300 cc., à une pression de 1/4 d'atmosphère, le 2e dans une éprouvette semblable maintenue à la pression normale. Le 3e avait été mis sous une grande cloche de plus de quatre litres, à 1/4 d'atmosphère, le 4e dans une cloche identique, à la pression atmosphérique. Le 19 janvier, les plantes du 1er lot placées dans la petite éprouvette à 1/4 d'atmosphère, étaient restées presque étiolées; elles étaient peu allongées, ne présentaient qu'un seul entre-nœud, la tige était renflée à la base (voir fig. 41, *a*).

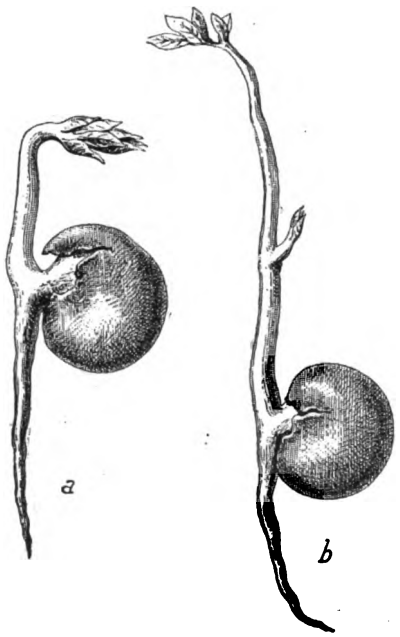


Fig. 41. — Lentille. Expérience du 19 janvier; *a*, air raréfié ; *b*, témoin.

Les plantes témoins du 2e lot, contenues dans une éprouvette semblable, laissée à la pression normale, étaient franchement vertes ; elles présentaient la plupart un entre-nœud, quelques-unes deux (voir fig. 41, *b*).

Voici les longueurs respectives de quelques-unes de ces plantes :

Plantes témoins	Tige.	— 2cm	— 3,5	— 3,7	— 2,7.
	Racine.	— 2	— 1,5	— 1	— 2.
Plantes maintenues à 1/4 d'atmosphère	Tige.	1	— 1	— 0,7	— 0,7.
	Racine.	2,2	— 1	— 1,9	— 1,7.

Ce retard dans le développement est dû à la très petite quantité

Digitized by Google

d'oxygène dont disposent les plantes. Une faible pression tend, en général, à provoquer un allongement des plantes comme M. Paul Jaccard (1) l'a démontré, mais ici le manque d'oxygène agit plus fortement que la valeur absolue de la pression totale.

Les lentilles placées dans les grandes cloches ont montré la manière dont ces deux actions antagonistes peuvent se combiner. Les plantes maintenues à 1/4 d'atmosphère ont commencé par s'allonger beaucoup plus que les plantes témoins par suite de l'influence de la faible pression totale. Elles avaient assez d'oxygène pour verdir presque autant que les plantes à la pression normale mais les réserves de la graine étant encore très incomplètement consommées, l'assimilation chlorophyllienne n'a pu être très forte, et l'expérience se prolongeant, l'effet du manque d'oxygène a commencé à se faire sentir. La croissance des plantes dans l'air raréfié s'est ralentie, les plantes témoins les ont dépassées (voir fig. 42).

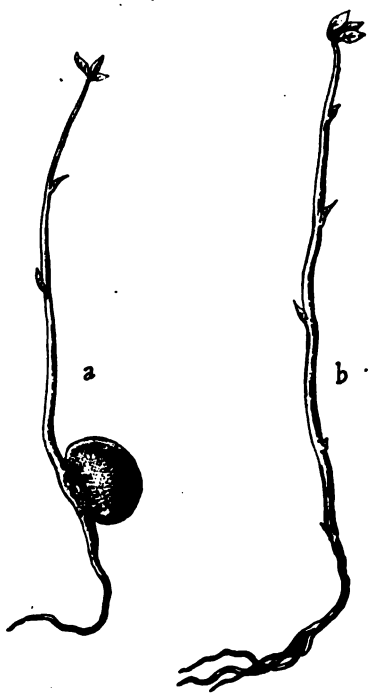


Fig. 42. — Lentilles. Expérience du 13 janvier au 15 février. *a*, air raréfié; *b*, témoin.

Les plantes témoins avaient 6 ou 7 entre-nœuds, les plantes maintenues dans l'air raréfié en avaient 3 au plus. Voici quelques mesures :

Les entre-nœuds sont comptés à partir de l'entre-nœud supérieur.

(1) Paul Jaccard : Influence de la pression des gaz sur le développement des végétaux. *Revue générale de Botanique*, tome V (1893), p. 289.

Digitized by Google

Lentilles à 1/4 d'atmosphère :

1er entre-nœud	1,2	1,5	0.5	0,5	0,5	0,8	0,5.
2e » »	2,1	2,7	1	1,1	2,5	2	2.
3e » »	3,2	2,8	2	2,2.			
Longueurs totales :	6,5	7,0	3,5	3,8	3,0	2,8	2.5.

Lentilles témoins

1er entre-nœud	0,9	1	1	1	1,5	0,8
2e » »	1,8	1,5	1,2	2	1,8	1,2
3e » »	1,2	1,2	1,9	1,5	0,8	1,4
4e » »	0,9	1,0	1,8	2	1,4	2,1
5e » »	1,4	1,3	2	1,3	1	1,4
6e » »	1	1	1	1,7	1,8	2
7e » »	1,8	2	2			
	9,0	9,0	10,9	9,5	8,7	7,9

Voici les longueurs moyennes correspondant aux deux catégo-

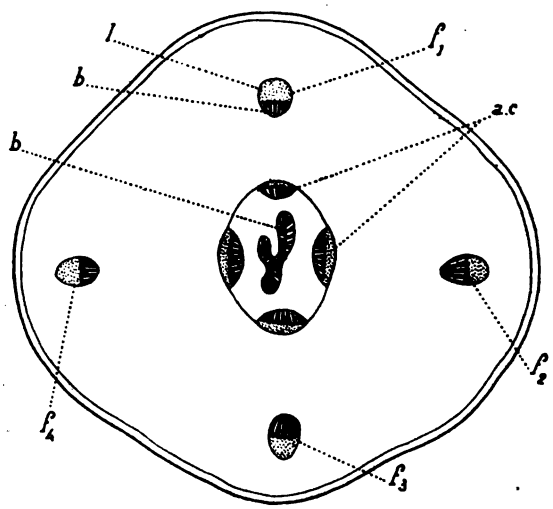


Fig. 43. — Lentille. Expérience du 13 janvier au 15 février, air raréfié, 2e entrenœud.

ries de plantes en ne prenant dans chaque groupe que les plantes ayant le nombre maximum d'entre-nœuds (7 chez les témoins, 3 chez les plantes maintenues dans l'air raréfié) plantes à 1/4 d'atmosphère : 1 entrenœud 0,92. — 2 : 1,72. — 3 : 2,55. Plantes

Digitized by Google

témoins : 1 0,96. — 2 : 1,5. — 3 : 1,43. — 4 : 1,23. — 5 : 1,56. — 6 : 1. — 7 : 1,93.

L'examen anatomique indique le même genre de modifications déjà signalées pour le sarrasin. Ici, à strictement parler, il ne peut être question de mesurer l'épaisseur de l'écorce. On sait que les lentilles, en dehors d'un cylindre central cohérent, placé au milieu de la tige, présentent des faisceaux libéroligneux distincts situés vers la périphérie. Bien qu'un pareil langage soit incorrect au point de vue anatomique, pour simplifier, je demande la permis-

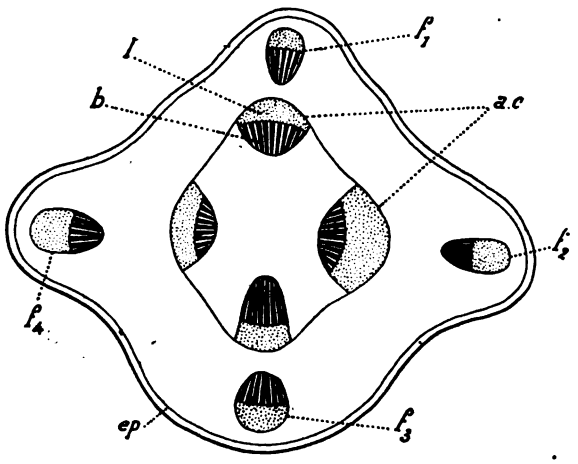


Fig. 44. — Lentille. Expérience du 13 janvier au 15 février (2e entrenœud).

sion d'appeler écorce la région située entre l'épiderme et le cylindre central principal. L'épaisseur relative de l'écorce, dans la plante maintenue soit dans l'obscurité, soit dans l'air raréfié, est toujours plus grande que dans le témoin placé dans des conditions normales de pression et d'éclairement.

On observe aussi un certain retard dans la lignification. Considérons de nouveau, cette fois au point de vue anatomique, les plantules de l'expérience du 13 au 19 janvier avec les petites éprouvettes.

Voici des valeurs numériques correspondant à des coupes pratiquées au milieu de l'entrenœud unique des plantes considérées.

Plante témoin : $C = 3,75 \quad E = 3,62 \quad \frac{C}{E} = 1,04.$

Digitized by Google

Plante à 1/4 d'atmosphère : $C = 3,15$ $E = 5,22$ $\frac{C}{E} = 0,603$.

Une partie des plantes qui avaient été maintenues à 1/4 d'atmosphère dans la petite éprouvette a été replacée dans les conditions normales : les plantes ont verdi, se sont allongées beaucoup sans toutefois rattrapper les plantes témoins avec lesquelles elles ne présentaient pas de différences anatomiques sensibles.

L'étude anatomique des plantes placées sous les cloches de 4 litres du 13 janvier au 15 février donne des résultats analogues.

Voici, par exemple, les rapports $\frac{C}{E}$ pour le second entre-nœud :

1/4 d'atmosphère : $\frac{C}{E} = 0,875$

témoin : $\frac{C}{E} = 0,175$

Au point de vue de l'épaisseur relative de l'écorce, je constate le même genre de différences entre les plantes étiolées et les plantes développées à la lumière qu'entre les plantes maintenues dans l'air raréfié et les plantes dans des conditions normales de pression. Il semble donc que le manque d'oxygène a, sur la structure anatomique des plantes comme sur leur verdissement, une action comparable à celle de l'obscurité. Au point de vue de la morphologie externe, au contraire, ces deux actions sont en sens opposés.

Phaseolus multiflorus.

J'ai fait de très nombreuses expériences sur cette plante depuis le mois de décembre 1902. Les résultats généraux au point de vue de l'épaisseur relative de l'écorce sont d'accord avec ceux qui ont été obtenus en opérant sur le sarrasin et sur la lentille. Seulement, chez le haricot, il y a d'assez grandes variations individuelles. Deux plantes placées dans des conditions identiques n'ont pas toujours le même rapport entre le diamètre moyen du cylindre central et l'épaisseur moyenne de l'écorce. A ce point de vue, le sarrasin et la lentille présentent, au contraire, une très grande constance ; en comparant des plantes appartenant à un même lot, je n'ai constaté que des divergences presque insignifiantes. Avec le haricot, les divergences individuelles sont très appréciables ; elles peuvent soit

Digitized by Google

atténuer beaucoup le phénomène à observer, soit l'exagérer en apparence. Quoi qu'il en soit, dans la plupart des expériences, j'ai constaté que l'épaisseur relative de l'écorce de la tige était plus grande dans l'air raréfié ou dans l'air pauvre en oxygène que dans les conditions normales.

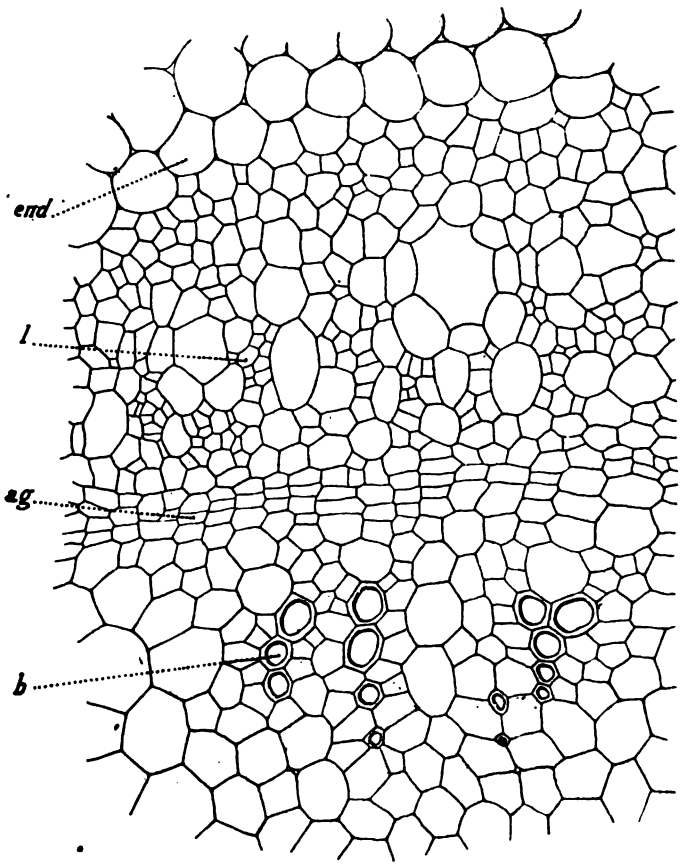


Fig. 45. — Expérience du 17 juillet 1903. Haricot étiolé, haut de la tige.

Au point de vue des détails de la structure anatomique, les résultats observés sur des coupes de tige de haricot ont, au contraire, une netteté particulière.

Lorsque la plante a peu d'oxygène à sa disposition, les cellules de l'écorce sont, d'ordinaire, plus grandes que dans la plante témoin ; elles ont souvent une forme plus irrégulière. L'écorce a,

Digitized by Google

le plus souvent, à peu près le même nombre d'assises de cellules dans l'air raréfié et dans les conditions normales. La région péricyclique est moins large et moins différenciée dans l'air raréfié ; le

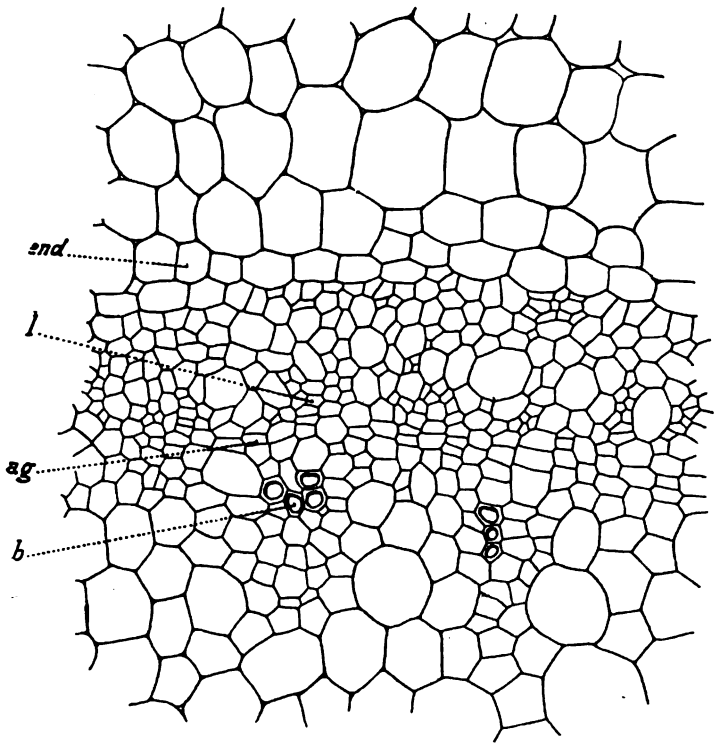


Fig. 46. — Expérience du 17 juillet 1903. Haricot placé dans l'air raréfié et à l'obscurité.

liber y présente moins d'éléments nettement différenciés. La lignification est presque toujours réduite au point de vue du nombre des éléments lignifiés et de l'épaisseur des parois.

Ces différents caractères rapprochent la structure de la tige d'un haricot cultivé à une faible pression de celle d'une plante étiolée. Il semble même y avoir plutôt exagération des caractères de l'étiolement. Des haricots placés dans des cloches assez volumineuses (deux litres environ), à une pression de 1/4 d'atmosphère, et dont les feuilles avaient presque la teinte normale ont présenté avec une grande netteté les diverses particularités qui viennent d'être indiquées.

Digitized by Google

Plusieurs expériences ont été faites à l'obscurité. Dans ces conditions, les caractères anatomiques de l'étiolement ont toujours été assez fortement exagérés chez la plante qui disposait d'une petite quantité d'oxygène. Je n'ai, d'ailleurs, pas vu grande différence entre cette plante et des échantillons mis en expérience à la lumière sous une faible pression d'oxygène.

Des haricots mis dans de l'oxygène pur raréfié de manière à donner à peu près la même pression d'Oxygène que dans les conditions normales, n'ont pas présenté de différences sensibles avec les plantes témoins. On pouvait prévoir ce résultat puisque M. Jaccard a montré que les conditions de pression totale n'ont pas d'influence directe sur la structure anatomique.

***

Ces quelques faits, constatés sur des plantes variées, conduisent tout naturellement à rapprocher l'action de l'oxygène de celle de la lumière.

Sans une quantité suffisante d'oxygène, comme à l'obscurité, la plante présente, à la fois, un retard dans la différenciation et une modification dans le sens du développement. L'épaisseur relative de l'écorce est exagérée, celle de la région péricyclique est diminuée, la lignification est incomplète. Chez la plante étiolée, on peut prolonger l'expérience assez pour voir ces différents caractères s'accentuer beaucoup. Dans un air pauvre en oxygène, on ne peut guère dépasser les délais indiqués dans les diverses expériences que j'ai citées, si l'on se place dans des conditons où la pression d'oxygène est assez faible pour avoir une action très marquée sur la structure de la plante. Par suite de la nature même du sujet, j'ai été obligé d'opérer sur des végétaux à un état très jeune, où l'influence des conditions extérieures est moins forte que plus tard. Pourtant, les résultats montrent nettement une grande analogie de structure avec des plantes étiolées. Pour le port du végétal, les effets sont, au contraire, opposés. On le comprend aisément si l'on considère que l'extrême allongement des plantes à l'obscurité est corrélatif d'une accélération des échanges respiratoires. Si la pression d'oxygène est faible, la respiration est entravée, le végétal prend un port ramassé si marqué chez les lentilles placées dans de petites éprouvettes où l'air est très raréfié.

Digitized by Google

INFLUENCE
DE LA
CULTURE EN SERRE
SUR QUELQUES PLANTES DES ENVIRONS DE PARIS

par J. BÉDÉLIAN *(Fin).*

(Planches 10 à 13).

VII. — DÉVELOPPEMENT

1. — Plantago lanceolata L.

1° *Culture en plein air.*

Pour suivre les divers stades du développement de la feuille, nous avons recueilli les feuilles pendant toute la période de végétation, à divers intervalles : premièrement, à l'état de germination; secondement, dans un stade très jeune, au mois de mars; troisièmement, le 15 avril; quatrièmement, le 26 mai; cinquièmement, enfin, le 20 août. D'après l'étude de la structure des feuilles appartenant à ces divers échantillons de *Plantago lanceolata*, nous pouvons esquisser le développement anatomique de la plante.

Nous avons agi de la même façon pour étudier le développement successif des tissus de la feuille de *Bellis perennis* et *Hieracium Pilosella*.

Le mode d'exposition le plus commode nous a paru être la description successive des divers tissus, qui constituent le corps de la feuille.

Digitized by Google

Épiderme. — Les cellules épidermiques d'une feuille d'un très jeune bourgeon sont de la même taille et ont la même forme que les cellules du parenchyme sous-jacent ; cependant les cellules épidermiques sont un peu plus hautes que les cellules parenchymateuses du limbe ; en général, ces cellules de l'épiderme sont un peu plus hautes que larges, il y a même par endroits des groupes de cellules qui sont très étroites. La taille est presque partout la même ; elle est seulement un peu plus grande sur les courbures, comme, par exemple, sur les bords du limbe et en face du faisceau central libéro-ligneux à la face inférieure. Les parois de ces cellules sont partout de la même épaisseur, elles sont très minces.

Dans le second échantillon on constate déjà une différenciation très nette dans la forme des cellules : les cellules qui entourent la saillie de la nervure médiane du côté inférieur sont plus hautes que larges, elles ont leurs parois externes un peu bombées, cuticularisées. Les autres cellules épidermiques de cet échantillon sont plus larges que hautes, même en face de la nervure à la face supérieure du limbe ; elles ont leurs parois externes cuticularisées seulement du côté inférieur du limbe.

Dans la troisième feuille, qui a été recueillie le 15 avril, la différence entre les cellules épidermiques, qui se trouvent en face du faisceau central du côté inférieur du limbe, et celles qui occupent les autres parties de la feuille, est très grande ; les premières ont une forme isodiamétrique, plutôt haute que large, et leurs parois sont très épaisses, surtout les parois externe et interne ; les secondes sont presque partout très larges, basses et ont leurs parois très minces. Plus tard les cellules en face du grand faisceau acquièrent une forme de plus en plus isodiamétrique et leurs parois latérales deviennent presque aussi épaisses que les autres. Les cellules de l'épiderme dans les autres endroits de la feuille accentuent de plus en plus leur forme, en s'accroissant surtout dans la direction de leur largeur, et pas dans celle de leur hauteur. Ces cellules acquièrent de très grandes dimensions dans le plan de l'épiderme.

Parenchyme. — Dans le limbe de la plus jeune feuille étudiée le parenchyme est constitué par un massif de cellules très homogènes, qui sont placées assez régulièrement en cinq assises dans l'ensemble du limbe, et en six près du faisceau central. Ces cellules sont à

Digitized by Google

peu près cubiques, leurs parois sont partout très minces, il n'y a guère de méats intercellulaires. Ces cellules sont un peu plus petites que les cellules épidermiques de la même feuille.

Dans la deuxième feuille, recueillie encore dans un état assez jeune, les cellules n'ont presque pas subi de changement dans leur forme, elles sont restées semblables les unes aux autres, seulement le nombre de leurs assises a passé de cinq à six. Ajoutons seulement que les cellules parenchymateuses qui se trouvent dans la nervure médiane sont plus rondes et laissent entre elles quelques petits méats, tandis que les autres cellules du tissu parenchymateux ont une forme polyédrique et sont unies entre elles sans méats.

Si nous passons maintenant à la structure du tissu parenchymateux de la feuille de la récolte du 25 avril, nous verrons que la différenciation du tissu lacuneux et du tissu palissadique existe déjà d'une façon très nette. Dans cet échantillon, le tissu parenchymateux est constitué au dos du faisceau par des cellules arrondies, et ailleurs par du tissu palissadique en haut et lacuneux en bas.

Le tissu en palissade présente deux assises de cellules hautes et un peu étroites ; néanmoins le caractère propre à ces cellules n'est pas encore assez accentué ; les cellules ne sont pas assez hautes, assez étroites pour avoir l'aspect des cellules palissadiques typiques. En quelques endroits le nombre d'assises de cellules palissadiques est de trois, mais la forme de ces cellules n'est pas pour cela mieux caractérisée.

Le tissu lacuneux est représenté par des cellules assez larges et basses qui sans aucun ordre sont situées les unes près des autres, mais leur côté large est plutôt parallèle à la surface de l'épiderme ; même dans cet échantillon, où il y a déjà une différenciation entre les tissus palissadique et lacuneux, le tissu lacuneux est dépourvu de méats intercellulaires. La troisième partie du tissu parenchymateux qui se trouve du côté du grand faisceau entre le faisceau et la face inférieure, est constituée par des cellules rondes qui sont placées en anneaux assez réguliers autour du faisceau ; la première assise sous-jacente a des cellules un peu plus petites que les autres assises et leurs parois commencent à présenter un épaississement notable. Cette partie du tissu parenchymateux possède des méats intercellulaires, puisque les cellules sont régulièrement rondes.

Dans l'échantillon suivant nous voyons que le tissu palissa-

Digitized by Google

dique est mieux caractérisé ; il y a trois assises qui ont un aspect palissadique, très net, la hauteur est de 2 à 3 fois plus grande que la largeur. Le tissu lacuneux a acquis une épaisseur plus considérable, mais il ne mérite pas encore véritablement son nom, parce que les méats intercellulaires ne paraissent pas. L'assise sous-épidermique située à la face inférieure en face du faisceau commence à acquérir le caractère de collenchyme.

Une particularité dans le mode du développement du tissu palissadique mérite d'être notée. Quand les cellules commencent à se différencier en tissu palissadique, ce sont les cellules de la première assise en partant de l'épiderme supérieur qui se transforment les premières en palissades ; d'isodiamétriques elles deviennent plus hautes que larges ; mais au début la hauteur ne dépasse pas beaucoup la largeur ; ensuite ce sont les cellules de la seconde assise qui s'allongent ; en même temps la transformation des cellules de la première s'accentue ; la hauteur des cellules devient plus considérable et les cellules acquièrent de plus en plus l'aspect typique des cellules en palissade. Après la deuxième assise c'est la troisième, qui subit cette modification de forme. Quand la troisième assise de cellules a commencé sa transformation, la première assise ressemble aux cellules palissadiques, la seconde un peu moins, la troisième encore moins. On voit ainsi, dans la même préparation, par quels états est passée une cellule de parenchyme pour se transformer de cellule isodiamétrique en cellule palissadique.

Dans les deux derniers échantillons les tissus palissadique et lacuneux sont encore plus différenciés. Les cellules lacuneuses à la fin de l'année de végétation sont devenues plus grandes, plus lâchement unies les unes aux autres, mais il n'y a pas beaucoup de méats intercellulaires. Cela tient à ce que la feuille du *Plantago lanceolata*, au lieu d'être horizontale, est oblique, de sorte que la lumière frappe avec assez d'intensité même la face inférieure et que, par conséquent, le caractère du parenchyme lacuneux doit y être relativement peu accentué.

Faisceaux. — En observant le développement progressif d'un faisceau libéro-ligneux, par exemple du faisceau central, on voit que chez la feuille encore très jeune, dans le bourgeon, les vaisseaux

Digitized by Google

du bois ne sont que très légèrement lignifiés ; les vaisseaux sont en nombre d'un ou de deux seulement, les autres cellules sont presque toutes de même taille et de même forme ; les cellules libériennes sont cependant faciles à distinguer grâce à leurs cloisonnements particuliers. Un peu plus tard la feuille a déjà acquis un faisceau bien différencié avec six files de vaisseaux à parois assez épaissies et lignifiées avec un tissu libérien très nettement disposé en arc ; même il y a au dos du liber un petit arc de cellules à parois déjà un peu épaissies. L'endoderme surtout est très net ; il forme autour du faisceau un anneau de cellules faciles à distinguer des cellules voisines par leur taille plus grande.

Dans l'échantillon recueilli le 15 avril nous avons déjà le faisceau tout à fait développé ; on peut très nettement distinguer toutes ses parties-bois, liber, etc. Autour de ce faisceau les cellules de l'endo derme se sont allongées surtout dans le sens tangentiel. Au dos du liber et à la pointe du bois, il y a un massif de cellules qui ont leurs parois épaissies. Le nombre des files de vaisseaux s'est accru ainsi que le nombre des vaisseaux de chaque file. Si l'on étudie successivement les coupes transversales des faisceaux centraux dans les plantes recueillies le 26 mai et le 26 août, on voit que toutes les parties sont devenues à la fin de la saison de végétation plus grandes et plus fortes ; les vaisseaux sont très nombreux, leurs lumières sont plus larges, les parois plus lignifiées ; le cambium se met très nettement en évidence, il a les cellules à parois minces, le liber aussi est bien développé.

Dans une feuille très jeune de *Plantago lanceolata*, qui a vécu en plein air, en coupant dans le sens transversal, on voit plusieurs faisceaux libéro-ligneux. L'âge de ces faisceaux est d'autant moins avancé, qu'on les considère plus loin du plan de symétrie de la feuille. Ainsi, on peut en étudiant la structure de ces faisceaux, en partant du plus jeune, établir pour ainsi dire le tableau de leur développement successif. Au début, dans le mésophylle de la feuille, on aperçoit un groupe de petites cellules dont l'ensemble a une forme pentagonale. Dans ce groupe on peut compter une dizaine de petites cellules quadrangulaires ou pentagonales. Les parois de ces cellules sont droites et minces. Autour de ce groupe de cellules qui évidemment sont des cellules libériennes (ce que l'on peut

Digitized by Google

admettre d'après leur forme) on aperçoit des cellules qui ne diffèrent pas beaucoup d'autres cellules du mésophylle ; seulement elles sont un peu aplaties, tandis que les cellules du mésophylle sont isodiamétriques et même plus hautes que larges.

Sur un autre faisceau, jeune aussi, nous voyons que le développement des diverses parties du faisceau a fait des progrès ; ainsi, nous apercevons que le liber a pris une forme longue et assez large ; et d'autre part le bois commence à se produire ; dans ce faisceau, où les diverses parties ont seulement commencé à se différencier, on n'aperçoit qu'un vaisseau bien net à parois épaisses et lignifiées. Les autres cellules voisines du vaisseau ont une forme polygonale et leurs dimensions sont à peu près les mêmes que celles du vaisseau. L'assise génératrice s'est formée bien distinctement; entre la partie du bois et le liber on voit deux couches de cellules d'assise génératrice qui sont placées parallèlement l'une à l'autre, se touchant par leur face plus large. L'ensemble du liber, de l'assise génératrice et du bois, qui a une forme nettement ronde, est entouré de l'endoderme, dont les cellules sont un peu aplaties parallèlement à la face, par laquelle elles touchent le faisceau.

Dans le troisième faisceau libéroligneux qui forme la nervure médiane de la jeune feuille, se montre déjà un grand progrès dans la différenciation des diverses parties du faisceau. Le liber est très développé ; dans le sens de la largeur du tissu on compte jusqu'à cinq cellules, en longueur jusqu'à douze. Les cellules sont petites, polygonales, à paroi mince ; quelques-unes de ces cellules sont en train de se diviser. L'assise génératrice est très nettement formée par deux rangs de cellules allongées dans le sens perpendiculaire au plan de symétrie de la feuille. Le bois a seulement trois vaisseaux à parois lignifiées ; les autres vaisseaux ont leurs parois minces ; d'après la forme on peut compter jusqu'à dix jeunes vaisseaux. L'endoderme est nettement différencié et a ses cellules grandes et un peu aplaties.

On voit par cette étude que l'état jeune d'une feuille développée en plein air a des traits de ressemblance avec l'état adulte d'une feuille de la même espèce cultivée en serre.

Digitized by Google

2° *Culture en serre.*

Passons maintenant à l'étude du développement de la structure du *Plantago lanceolata*, cultivé dans la serre.

Pour notre comparaison nous avons fait des coupes à quatre divers états du développement de la plante de la serre. Ces coupes à trois de ces états successifs sont représentées sur la planche 10 (fig. 1, 2 et 3).

Épiderme. — L'épiderme de la feuille la plus jeune est formé par des cellules isodiamétriques, pas plus grandes que les cellules parenchymateuses voisines ; elles sont un peu plus grandes sur le bord de la feuille et en face des faisceaux libéro-ligneux, du côté inférieur de la feuille. Dans un état un peu plus avancé les cellules épidermiques acquièrent des parois un peu plus épaisses, mais leur épaisseur est inférieure à ce que l'on trouve en plein air. Elles s'accroissent un peu dans le sens de la surface du limbe et deviennent plus larges que les cellules parenchymateuses. Leurs parois sont plus épaisses et plus bombées en face des faisceaux. Dans la plante la plus âgée, les cellules épidermiques sont devenues très longues et leur plus grande dimension est dans le sens parallèle à la surface de la feuille.

Tissu parenchymateux. — Il n'existe pas de tissu en palissade différencié même au stade le plus développé de la feuille. Le tissu parenchymateux dans la feuille extrêmement jeune est constitué par cinq assises de petites cellules à parois minces et droites qui sont exactement juxtaposées sans méat. La première assise du côté supérieur et la première assise du côté inférieur de la feuille ont leurs cellules un peu plus hautes que larges, ce qui aurait pu faire prévoir que dans les coupes des plantes plus âgées on aurait trouvé du tissu palissadique bien développé ; mais dans la suite ces assises de cellules plus hautes que larges perdent leur forme primitive et ces cellules deviennent semblables en tout aux autres cellules voisines parenchymateuses. Les cellules des assises correspondant au tissu lacuneux habituel des feuilles sont isodiamétriques à l'état très jeune, elles deviennent de plus en plus larges à mesure que la plante avance en âge. Au début, ces cellules sont placées les unes à côté des autres sans aucun méat intercellulaire,

Digitized by Google

mais avec les progrès de la différenciation apparaissent des méats qui d'ailleurs ne sont pas d'une grandeur considérable.

Dans les limbes les plus développés on voit que les cellules du tissu lacuneux ont leur dimension la plus grande parallèle à la surface du limbe. Le fait principal est donc que les conditions de milieu réalisées dans la serre s'opposent à la différenciation du tissu palissadique.

Quant aux faisceaux libéro-ligneux dans la plante de la serre, ce sont leurs parties de soutien qui se développent le moins si on les compare avec celles de la plante de plein air ; ainsi les deux massifs de cellules à parois épaisses, qui sont placés l'un du côté supérieur du bois et l'autre du côté inférieur du liber, sont moins fortement développés et ont leurs parois beaucoup plus minces qu'en plein air; les vaisseaux, dans la serre, sont moins nombreux et ont leurs lumières plus petites. Outre cela il n'y a pas de grandes différences dans la structure de ces faisceaux.

En résumé, en plein air, la différenciation des tissus est d'abord plus hâtive que dans la serre et ensuite s'accentue davantage ; en serre la plante s'arrête en quelque sorte à un degré de différenciation que dépasse la plante de plein air. Pour l'épiderme, les cellules restent, en serre, moins hautes qu'en plein air ; elles acquièrent au contraire une dimension plus grande dans le sens parallèle au limbe. En outre, la paroi externe reste toujours très mince.

Le parenchyme général reste presque complètement indifférencié ; c'est à peine si une première assise sous-épidermique est un peu plus haute que les autres ; en plein air, au contraire, on voit que les assises placées sous l'épiderme supérieur acquièrent progressivement, en commençant par la plus externe, le caractère de palissade. Il se différencie dans la serre beaucoup moins de vaisseaux et les massifs de cellules situés de part et d'autre de ce vaisseau n'acquièrent pas des parois aussi épaisses qu'en plein air.

2. — Hieracium Pilosella L.

1° *Culture en plein air.*

Pour cette étude nous avons fait trois coupes transversales des feuilles en divers états de développement et une coupe spéciale pour le limbe.

Digitized by Google

Épiderme. — Chez la feuille encore très jeune on peut déjà distinguer les cellules épidermiques situées en face des faisceaux et celles situées dans les autres régions. Les premières sont un peu plus hautes que larges, ont leurs parois externes bombées et cuticularisées ; les secondes sont larges et basses, et leur largeur dépasse souvent deux fois la hauteur ; leurs parois sont plates et très minces.

Dans un échantillon plus âgé la forme des deux sortes de cellules épidermiques est encore plus nettement différenciée ; les parois externes des cellules du premier groupe sont plus épaissies, et la largeur des autres cellules épidermiques est plus accentuée. Les cellules épidermiques qui se trouvent en face du grand faisceau libéro-ligneux central, du côté supérieur de la feuille, ont pris la forme des cellules opposées qui se trouvent du côté inférieur du limbe, tandis que ce groupe de cellules épidermiques dans l'échantillon précédent plus jeune ne s'était pas différencié des autres cellules du limbe et était constitué par des cellules larges et basses à parois minces, même du côté extérieur. Plus tard cette différenciation des deux espèces de cellules s'accentue encore plus fortement ; les parois des premières cellules acquièrent une épaisseur plus considérable et leurs lumières deviennent plus petites, leurs parois plus bombées ; en même temps les autres cellules qui limitent le tissu parenchymateux du limbe, s'accroissent plutôt dans leur hauteur, en conservant en tout cas leur forme basse primitive et leurs parois plates et minces.

Tissu parenchymateux. — La différence du parenchyme en tissu palissadique et tissu lacuneux a commencé à un état très jeune de la feuille. A un stade peu avancé les cellules palissadiques ne sont pas plus hautes que larges, mais leurs assises ont un autre aspect que les cellules lacuneuses, parce que les premières sont sensiblement cubiques, sont juxtaposées très régulièrement, tandis que les celulles lacuneuses sont rondes, disposées lâchement les unes près des autres avec de petits méats intercellulaires qui manquent dans le premier tissu. En tous cas la différenciation est assez précoce, parce que le tissu palissadique dans un échantillon très jeune occupe la moitié de l'épaisseur du limbe. Dans une feuille plus âgée, le tissu palissadique représente un développement plus avancé; ainsi par endroits on voit un troisième étage de cellules palissa-

Digitized by Google

diques superposées. Le tissu lacuneux dans cet échantillon mérite de plus en plus son nom, parce que les cellules sont placées les unes près des autres avec une grande irrégularité et les méats intercellulaires ont beaucoup augmenté de volume.

Chez la feuille adulte le tissu palissadique est très développé; les cellules sont très étroites, très hautes, disposées en trois assises, dont l'ensemble occupe les deux tiers de l'épaisseur du limbe. Les cellules lacuneuses sont rondes ou très irrégulières, présentant entre elles de très larges méats.

Dans le tissu parenchymateux, outre les tissus lacuneux et palissadique, il y a encore un massif de cellules rondes ou isodiamétriques qui forment plusieurs assises, disposées plus ou moins régulièrement en anneau autour des faisceaux. Elles s'agrandissent avec le développement de la feuille, laissant des méats intercellulaires, parce qu'elles sont rondes. Leurs parois sont minces. En face des faisceaux, à la face inférieure de la feuille, le parenchyme a un aspect particulier ; il y a d'abord une seule assise, dont les cellules sont plus petites et ont leurs parois plus épaisses que les cellules voisines; puis dans les feuilles plus âgées cette région s'étend et c'est parfois jusqu'à la quatrième assise que les cellules se modifient de la sorte.

Faisceaux. — Le faisceau central dans la feuille très jeune, quoique différencié, n'a pas ses parties bien développées : le bois est représenté par sept vaisseaux très petits, aux lumières presque égales entre elles, à parois un peu épaisses et légèrement lignifiées; le liber est bien différencié et on voit aussi nettement les assises du tissu cambial ; les deux massifs de cellules situés respectivement du côté inférieur du liber et du côté supérieur du bois ont encore leurs parois minces et même le second massif n'est encore que peu important. L'endoderme a des petites cellules.

Dans les autres échantillons plus âgés toutes les parties du faisceau sont naturellement plus développées ; tous les tissus ont augmenté leurs dimensions ; les parois des vaisseaux sont devenues plus épaisses et les cellules endodermiques ont acquis une forme ronde.

Digitized by Google

2° *Culture en serre.*

Épiderme. — La forme des cellules épidermiques varie peu avec l'âge ; sensiblement cubiques dans les plus jeunes échantillons, les cellules deviennent plus tard allongées parallèlement au limbe, et ce caractère est plus accentué qu'en plein air. Les parois des cellules restent toujours minces et droites.

Parenchyme. — On voit dans un échantillon très jeune toute la partie parenchymateuse du limbe constituée seulement par trois assises de cellules peu élevées, et ayant leur plus grande dimension parallèle à la surface de la feuille de telle manière que l'épaisseur du limbe est très faible. Avec les progrès du développement les assises de cellules parenchymateuses augmentent de nombre : on en trouve de cinq à six qui se ressemblent toutes sans qu'on distingue nettement des palissades.

La feuille adulte possède jusqu'à dix assises de cellules, on ne peut pas y constater un tissu en palissade caractérisé ; les cellules sont toutes semblales les unes aux autres, arrondies, laissant entre elles des méats qui ne sont jamais volumineux. Cette structure de la feuille dans la serre est très frappante, car nous avons vu que le tissu palissadique, au contraire, est très différencié en plein air et forme une fraction considérable de l'épaisseur du limbe.

Faisceaux. — Quant aux faisceaux libéro-ligneux, ils sont, dans la serre, beaucoup plus faiblement développés ; toutes les parties de ces faisceaux présentent une différenciation moindre.

En résumé, en plein air, le développement et la différenciation de la plante sont plus considérables qu'en serre. Ce qui frappe surtout, c'est le peu de différenciation qui se produit en serre. Les cellules épidermiques gardent leurs parois toujours minces et s'étalent parallèlement au limbe, tandis qu'en plein air elles s'allongent dans le sens perpendiculaire de façon à être plus hautes et en outre elles acquièrent une épaisse cuticule. En plein air, la différenciation du tissu palissadique est extrêmement accentuée ; en serre, il n'y a pas trace de ce type de tissu. Les faisceaux libéro-ligneux ont une plus large surface en plein air et toutes leurs parties de soutien sont beaucoup plus développées.

Digitized by Google

3. — **Bellis perennis** L.

1° *Culture en plein air.*

Épiderme. — Dans la feuille, examinée à l'état le plus jeune, l'épiderme comme chez les deux plantes précédentes, a deux sortes de cellules, les unes, situées en face des faisceaux et les autres sur le reste du limbe. Les premières sont plus hautes que larges, ont leurs parois externes bombées et épaissies ; les secondes sont quadrangulaires, aussi larges que hautes, à parois droites et minces. La différence entre ces deux espèces de cellules épidermiques s'accentue pendant le développement de la feuille : les premières ont leurs parois externes de plus en plus bombées et cutinisées, les secondes conservent leurs parois droites et n'ont qu'une mince cuticule.

Tissu parenchymateux. — Comme chez l'*Hieracium Pilosella* la différenciation du tissu parenchymateux en tissus palissadique et lacuneux, commence de très bonne heure ; ainsi, dans un stade très jeune, les deux premières assises sous-jacentes à l'épiderme supérieur ont acquis une hauteur plus considérable que leur largeur et, se touchant les unes aux autres, ont l'aspect de tissu palissadique bien prononcé.

Le tissu lacuneux est plus épais que le palissadique et a ses cellules rondes, quelquefois polygonales, laissant entre elles des méats intercellulaires.

Dans une feuille plus âgée les cellules palissadiques se sont développées surtout en longueur, mais aussi un peu en largeur ; les cellules du tissu lacuneux se sont arrondies davantage et le volume des méats a augmenté.

Plus tard, les cellules du tissu lacuneux deviennent extrêmement larges, restent très basses et se disposent en plusieurs rangées parallèles de façon que leur plus grande dimension est perpendiculaire à la hauteur des cellules palissadiques.

Les cellules du tissu parenchymateux qui se trouvent autour du faisceau libéro-ligneux central, deviennent de très bonne heure rondes et elles restent toujours rondes, ou quelquefois même elles

Digitized by Google

deviennent faiblement polygonales en conservant d'ailleurs toujours leur forme isodiamétrique.

En face du faisceau du côté inférieur de la feuille, l'assise sous-épidermique acquiert des caractères spéciaux ; ses cellules restent petites et étroitement juxtaposées latéralement et ont leurs parois un peu plus épaisses que celles des cellules voisines.

Dans les feuilles d'âge successivement croissant on voit que toutes les parties des faisceaux se développent d'une façon assez régulière en gardant leurs proportions relatives.

2° *Culture en serre.*

En passant maintenant à l'étude des feuilles de la serre nous voyons que le développement de la structure se fait comme nous l'avons déjà vu pour deux plantes précédemment étudiées ; le parenchyme ne se différencie pas en tissu lacuneux et tissu palissadique, mais toute l'épaisseur du limbe est formée par des cellules irrégulières, un peu plus larges que hautes ; ces cellules sont plus étendues parallèlement à la surface du limbe. Les cellules épidermiques en face des faisceaux gardent leurs cellules peu bombées, à parois externes peu épaisses et peu cutinisées. Les cellules épidermiques du limbe sont plus longues qu'en plein air ; les assises sous-jacentes à l'épiderme inférieur, en face du faisceau, sont restées plus semblables aux autres cellules rondes qui entourent le faisceau central.

L'appareil de soutien dans les faisceaux libéro-ligneux est moins développé et ses cellules conservent leurs parois assez minces.

En un mot, l'effet de la serre sur le développement de la feuille pendant toute la période de végétation a été le même chez le *Bellis perennis*, que chez le *Plantago lanceolata* et l'*Hieracium Pilosella.*

4. — Plantago media L.

Développement du faisceau libéro-ligneux de la tige.

Au milieu d'une coupe, qui a une forme ellipsoïdale, on trouve un faisceau qui commence à se former. Ce faisceau est constitué par un groupe de cellules assez grandes, polygonales, à parois min-

Digitized by Google

ces. Presque toutes les cellules sont de même taille. A la périphérie, les cellules sont cependant un peu plus grandes que les cellules du milieu. Dans ce groupe de cellules, on voit quatre vaisseaux qui sont placés deux par deux, les uns contre les autres, près de la périphérie du faisceau.

Les vaisseaux sont hexagonaux, à parois un peu épaisses et lignifiées. Quant à l'assise génératrice, elle n'est même pas en voie de formation.

Autour du faisceau se sont placées des cellules un peu aplaties et qui sont, par leur côté plus large, appliquées sur le faisceau. On peut voir le dévoppement ultérieur d'un faisceau de tige, comparant la description de la tige de *Plantago media*, faite dans ce travail.

Dans le cotylédon examiné de *Plantago media*, on voit un faisceau libéro-ligneux très jeune et sur les côtés deux autres vaisseaux très peu différenciés. Ce sont seulement les cellules libériennes qu'on voit au lieu d'un faisceau. L'ensemble de ces cellules libériennes a la forme d'une colonne qui a en hauteur 5 à 6 cellules; elle est élargie du côté extérieur du cotylédon et se termine en pointe. La largeur de cette colonne est constituée par deux ou trois cellules quadrangulaires ou pentagonales; la partie supérieure de cette colonne a ses cellules plus grandes que la partie inférieure. Ce groupe de cellules libériennes est entouré tout simplement par des cellules du mésophylle.

Le faisceau libéro-ligneux qui se trouve au plan de symétrie du cotylédon a quatre vaisseaux à parois épaisses et plusieurs cellules libériennes. Près des vaisseaux déjà bien distincts, il y a quelques cellules qui deviendront des vaisseaux; on peut en juger ainsi d'après la forme qu'ont acquise ces cellules. Les cellules de mésophylle qui entourent ce faisceau libéro-ligneux ont changé leurs formes de façon qu'on peut les considérer comme celles de l'endoderme. Il faut encore ajouter qu'entre les vaisseaux et le liber on voit seulement çà et là quelques cellules aplaties qui constitueront l'assise génératrice.

Digitized by Google

CONCLUSIONS

Les recherches que nous venons de faire démontrent qu'en cultivant des plantes dans une serre on modifie beaucoup leur forme extérieure, leur structure anatomique et le développement de leurs tissus.

I. — Forme extérieure.

Dans la serre, les plantes trouvant toujours des conditions favorables à leur vie active, continuent à se développer et leur croissance ne subit pas d'arrêt pendant l'hiver.

Aussi ces plantes acquièrent-elles des dimensions plus grandes dans toutes leurs parties : les entrenœuds sont plus allongés, les pédoncules floraux plus longs et plus nombreux ; les feuilles beaucoup plus abondantes, à pétioles plus allongés et à limbe à la fois plus long et plus large.

Parmi les plantes en expérience, celles qui avaient leurs feuilles appliquées à la surface du sol dans les conditions naturelles, ont développé, dans la serre, des feuilles qui prenaient une direction oblique, celles du milieu des rosettes devenant même dressées (Voyez pl. 13). Comme dans les cultures à l'obscurité, les feuilles s'allongent et se redressent ; il est naturel d'attribuer ce changement de port des plantes de la serre à la diminution de l'héliotropisme, ce qui permet à l'action du géotropisme de se manifester.

En outre, dans la culture en serre, les plantes étaient en général moins velues et la floraison était plus tardive.

II. — Structure anatomique.

Au point de vue anatomique, les changements subis par les plantes qui ont poussé en serre, sont aussi très grands.

Dans toutes les parties (tiges, pédoncules floraux, pétioles, limbes), les tissus de soutien sont moins développés dans la serre.

Digitized by Google

Chaque faisceau des tiges présente généralement, en plein air, deux massifs scléreux, situés l'un au dos du liber, l'autre à la pointe du bois. Les cellules de ces massifs ont leurs membranes très épaisses. Dans la serre, ces appareils de soutien ne sont que faiblement développés et leurs cellules ont leurs parois beaucoup plus minces. Les fibres péricycliques qui sont si abondantes dans les tiges et les pédoncules des plantes de plein air, sont également très peu développées dans la serre et les parois de ces fibres sont peu épaissies. (Voyez, par exemple, *scl*, fig. 13 *(a)* et 14 *(s)*, pl. 11).

Le faible développement des tissus de soutien, joint à l'allongement considérable des entrenœuds, fait que les plantes de serre ont leurs tiges très peu résistantes et que souvent elles ne peuvent se tenir dressées qu'avec l'appui d'un support.

Les faisceaux libéro-ligneux, dans la serre, sont plus petits (fig. 13 *(a)* et 14 *(s)*, pl. 11) ; il y a moins de files de vaisseaux et dans chaque file moins de vaisseaux ; la somme des calibres des vaisseaux est moindre qu'en plein air. Remarquons toutefois que si l'on compare, élément par élément, le bois de faisceaux comparables, à partir des pôles ligneux, on voit que le bois primaire, dans la serre, est cependant plus lignifié et à vaisseaux plus larges qu'en plein air. Ce fait n'est pas en contradiction avec celui qui vient d'être exprimé ; il correspond à cette remarque générale, que lorsqu'une tige a des formations secondaires précoces, ses tissus primaires sont ordinairement moins développés et inversement.

L'écorce des tiges est moins épaisse et compte moins d'assises dans la serre qu'en plein air. La moelle présente souvent une lacune centrale dans la serre.

Le liber dans les tiges et les feuilles est souvent plus développé dans la plante de plein air, mais les variations sont moins accentuées que pour le bois. La différence de diamètre entre les tubes criblés et les cellules de parenchyme ordinaire est moins marquée dans la serre parce que les tubes criblés y sont moins étroits. En somme, le tissu libérien est plus différencié en plein air que dans la culture en serre.

Le parenchyme du limbe se différencie très peu dans la culture en serre, tandis qu'en plein air il est formé d'un tissu très caractérisé, constitué par deux ou trois assises de cellules hautes et

Digitized by Google

étroites; dans la serre, au contraire, le parenchyme des feuilles garde un aspect très uniforme (fig. 6 et 8 [plein air]; 7 et 9 [serre], pl. 10).

Dans la serre, les feuilles ont un épiderme dont les cellules sont plus grandes, possèdent une cuticule moins épaisse et dont les stomates sont plus espacés (fig. 4 [plein air], et fig. 5 [serre], pl. 10).

Quant aux racines, celles développées en serre présentent à la fois, comme les tiges, des vaisseaux moins nombreux et plus étroits, ainsi qu'un bois primaire plus développé. Le liber secondaire est aussi plus précoce et plus abondant en plein air que dans la serre. L'écorce de la racine est, comme dans la tige, moins développée dans les plantes cultivées en serre.

III. Développement.

Si l'on considère le développement d'une feuille, par exemple celle du *Plantago lanceolata* développé dans la serre (fig. 1, 2 et 3, pl. 10), on voit que les tissus du limbe dans la feuille jeune (fig. 1), en dedans de l'épiderme, sont presque homogènes. Dans la même feuille devenue adulte dans la serre (fig. 3), ces tissus ne sont guère modifiés, sauf que les cellules du mésophylle sont plus nombreuses, plus grandes et présentent entre elles des méats. Il semblerait donc, qu'en se développant dans les conditions de culture de la serre, le limbe a pour ainsi dire conservé sa première structure (voir aussi les fig. 7 et 9 comparées aux fig. 6 et 8, pl. 10). En effet, une feuille très jeune de *Plantago lanceolata* (fig. 19, pl. 12) développée à l'air, présente entre ses nervures, un limbe à structure très simple. Le limbe d'une feuille de plante cultivée en serre conserverait donc, à l'état adulte, une structure voisine de celle qu'offre la feuille jeune d'une plante développée à l'air.

En réalité, les choses sont souvent plus compliquées. Si l'on suit avec attention les diverses phases du développement de la feuille du *Plantago lanceolata* développé dans la serre, on voit que de la structure simple à l'état très jeune (fig. 1, pl. 10), on passe à une structure plus différenciée, lorsque la feuille est un peu plus âgée (fig. 2, pl. 10) ; à ce stade, le limbe présente nettement une assise de tissu en palissade au dessous de l'épiderme, du côté de la face supérieure. Plus tard, cette assise perd sa différenciation et ses

Digitized by Google

éléments grandissant et se multipliant en même temps que ceux des assises sous-jacentes, elle devient semblable à ces dernières (fig. 3, pl. 10). La feuille développée en serre a donc héréditairement commencé à différencier ses tissus comme si elle se développait dans les conditions normales, mais sous l'influence du milieu humide et de la lumière diffuse, toute trace de différenciation des palissades s'est effacée. En plein air, au contraire, cette formation des assises en palissade se serait accentuée (fig. 6 et 8, pl. 10).

Une remarque intéressante peut être faite au sujet des changements de structure déterminés par la culture des plantes dans les serres. En certains cas, une espèce peut acquérir dans ses tissus une structure qui ressemble à celle que présente *une autre espèce* du même genre, à l'état naturel.

Considérons, par exemple, la section d'une nervure principale d'une feuille adulte chez deux espèces de *Plantago*, toutes deux cultivées en plein air : le *Plantago lanceolata* (fig. 10, pl. 11) et le *Plantago media* (fig. 11, pl. 11). La première est entourée par une seule assise d'endoderme spécial (*e*, fig. 10); la seconde est entourée par deux ou trois assises analogues (*e*, *é*, *e''*, fig. 11).

Si maintenant on examinait une nervure analogue d'une feuille adulte, celle représentée par la figure 12 *bis*, pl. 11, comme elle est très semblable à la nervure que représente la fig. 11, on la déterminerait, si sa provenance était inconnue, comme nervure d'une feuille de *Plantago media*. Or, en réalité, cette section de nervure qui représente la figure 12 *bis* appartient à une feuille de *Plantago lanceolata* cultivée en serre. La feuille de cette dernière espèce a donc acquis, par la culture en serre, des caractères (assises *e*, *é*, *e''*, fig. 12 *bis*) qui ressemblent à ceux que présente le *Plantago media* à l'état naturel. Ces caractères sont même parfois plus accentués encore, comme le montre la section représentée par la figure 12 (pl. 11), où l'on voit l'endoderme spécial *e*, entourant la nervure, renforcé par trois ou quatre autres assises de cellules analogues (*e'*, *e''*, *e'''*).

Ces observations montrent donc qu'on pourrait être parfois entraîné à des erreurs en cherchant à déterminer les espèces par leur structure anatomique, lorsqu'on ignore les conditions dans lesquelles ces plantes ont végété. Ces remarques font également

Digitized by Google

voir que la structure des plantes peut être assez profondément modifiée par la culture en serre pour changer certains de leurs caractères, de façon à les faire attribuer à une espèce différente.

En résumé, il résulte des observations et des cultures expérimentales qui précèdent, que l'air humide, la température presque constante et la lumière diffuse, conditions de milieu qui se trouvent réalisées dans les cultures en serre, modifient notablement la forme extérieure, le port et la structure des végétaux.

L'étude du développement montre que parmi les caractères spéciaux qu'on observe chez les plantes cultivées en serre, les uns résultent d'un arrêt dans la différenciation tandis que d'autres manifestent une adaptation à ces conditions particulières de culture.

Digitized by Google

EXPLICATION DES PLANCHES

(*a*) Culture en plein air ; (*s*) culture en serre

Planche 10

Fig. 1, 2, 3. — Développement du limbe d'une feuille de *Plantago lanceolata* : *eps*, *epi*, épiderme ; *h*, assise sous-épidermique de la face supérieure ; cette assise devient palissadique (fig. 2), puis perd sa différenciation (fig. 3).

Fig. 4 et 5. — Épiderme de la feuille du *Capsella Bursa-pastoris* : *st*, stomates. Plante cultivée en plein air (fig. 4) ; en serre (fig. 5).

Fig. 6 et 7. — Fragment de section transversale du limbe d'une feuille d'*Erodium cicutarium*, cultivé en plein air (fig. 6) et en serre (fig. 7) : *eps*, *epi*, épiderme ; *h*, assise sous-épidermique ; *p*, assise suivante.

Fig. 8 et 9. — Fragment de section transversale du limbe d'une feuille d'*Hieracium Pilosella*, cultivé en plein air (fig. 8) et en serre (fig. 9) : *eps*, *epi*, épiderme ; *h*, assise sous-épidermique ; *p*, assise suivante ; *p'* assise plus interne.

Planche 11

Fig. 10. — Coupe transversale d'une nervure de la feuille du *Plantago lanceolata* cultivé en plein air : *p*, parenchyme ; *e*, endoderme spécial de la nervure ; *b*, bois primaire ; *l*, liber primaire.

Fig. 11. — Coupe transversale d'une nervure de la feuille du *Plantago media* cultivé en plein air : *p*, parenchyme ; *e*, endoderme spécial de la nervure renforcé par les assises *e'* et *e''* ; *b*, bois primaire ; *l*, liber primaire.

Fig. 12 et 12 bis. — Coupes dans une feuille de *Plantago lanceolata* cultivé en serre. — La figure 12 *bis* représente la section d'une nervure analogue à celle du *Plantago media* cultivé en plein air. La figure 12 représente la section d'une autre nervure où l'endoderme spécial *e* est entouré de nombreuses assises analogues *e' e'' e'''*, etc.

Fig. 13 et 14. — Fragment de coupe transversale d'un pédoncule floral de *Capsella Bursa-pastoris*, cultivé en plein air (fig. 13) et en serre (fig. 14) : *ep*, épiderme ; *ec*, tissu cortical ; *end*, endoderme ; *scl*, sclérenchyme ; *l*, liber

Digitized by Google

primaire ; *ls*, liber secondaire ; *as*, assise génératrice libéro-ligneuse ; *bs*, bois secondaire ; *mx*, métaxylème ; *b*, bois primaire ; *zp*, zone périmédullaire ; *m*, moelle.

Planche 12

Fig 15 et 16. — Coupes transversales de racines adventives de *Plantago media* cultivé en plein air (fig. 15) et en serre (fig. 16) : *ece*, *eci*, tissu cortical ; *end*, endoderme ; *per*, péricycle ; *l*, liber primaire ; *ls*, liber secondaire ; *bs*, bois secondaire ; *b*, bois primaire.

Fig. 17 et 18. — Coupes transversales de racines adventives de *Bellis perennis* cultivé en plein air (fig. 17) et en serre (fig. 18) (mêmes lettres que fig. 15 et 16).

Fig. 19. — Coupe transversale d'une très jeune feuille de *Plantago lanceolata* développée en plein air : *ep*, épiderme ; *ec*, *ec'*, ec_2, ec_3, écorce ; *mv*, méristème vasculaire ; *nm*, nervure médiale ; *nl*, une nervure latérale ; *n'*, nervures secondaires en voie de formation ; *l*, liber et *b*, bois de la nervure médiale ; *pl* et *pb*, pôles ligneux et libérien d'une nervure latérale.

Planche 13

Fig. 20. — Aspect des cultures d'*Erodium cicutarium* : *A*, en plein air ; *S*, en serre.

Fig. 21. — Aspect des cultures de *Plantago major* : *A*, en plein air ; *S*, en serre.

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES

SUR LES

MATIÈRES DE RÉSERVES DES ARBRES

par M. LECLERC DU SABLON

I. — Méthodes.

Je me suis proposé de rechercher comment les réserves et, d'une façon générale, les substances pouvant servir d'aliment à la plante variaient pendant le cours d'une année dans les tiges, les racines et les feuilles des arbres. Parmi ces substances, les plus importantes sont certainement les hydrates de carbone qui, on le sait, jouent un rôle essentiel dans la nutrition de la plante ; leur dosage, surtout dans le cas des arbres, présente certaines difficultés parce que, à côté de substances telles que l'amidon ou le sucre nettement définies au point de vue de leur composition chimique et de leur rôle physiologique, se trouve une quantité d'autres hydrates de carbone comprenant les différentes variétés de cellulose, les matières pectiques, etc., dont les propriétés chimiques ainsi que le rôle sont assez mal définis. C'est ce qui explique pourquoi les résultats obtenus dans le dosage des matières hydrocarbonées sont très différents suivant les méthodes employées. Il y a donc lieu de définir d'une façon très précise la série de manipulations qui aboutissent aux dosages et d'employer toujours rigoureusement la même méthode.

Les hydrates de carbone renfermés dans une plante et pouvant lui servir d'aliment ont été répartis en trois groupes :

1° Les sucres caractérisés par leur solubilité dans l'alcool à 90° ;

2° Les dextrines caractérisées par leur insolubilité dans l'alcool à 90° et leur solubilité dans l'eau ;

Digitized by Google

3° L'amidon et les substances analogues, insolubles dans l'eau mais transformables en glucose sous l'action des acides étendus.

Pour extraire ces diverses substances, il faut d'abord dessécher la plante à étudier ; s'il s'agit d'une tige ou d'une racine, on la découpe en petits morceaux que l'on met dans une étuve à 90° environ. Au bout de deux jours, le poids reste à peu près constant ; on peut alors considérer la matière comme suffisamment desséchée, bien qu'une température supérieure puisse encore enlever une petite quantité d'eau. On réduit ensuite la matière desséchée en une poudre aussi fine que possible ; pour cette opération, le moulin Girard, formé essentiellement de deux meules horizontales armées de dents de bronze, m'a seul donné des résultats satisfaisants.

Pour un dosage, je prends environ 3 gr. de matière desséchée ; lorsque les corps gras sont en proportions assez grandes, comme dans les feuilles, je les extrais à l'aide de l'éther anhydre; puis j'épuise par l'alcool à 90° la substance débarrassée des matières grasses ; pour cela je la laisse simplement macérer pendant 8 jours environ dans un flacon bouché à l'émeri qui est agité aussi souvent que possible. Ensuite je filtre et je lave avec de l'alcool à 90° ; je suppose que dans ces conditions tout le sucre a été dissous. L'alcool est évaporé jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu solide qui contient non seulement le sucre mais diverses autres substances telles que les glucosides par exemple est repris par l'eau. Je traite par le sous acétate de plomb qui élimine diverses substances pouvant réduire la liqueur de Fehling ; j'élimine le plomb par l'acide sulfhydrique ; puis je ramène tous les sucres à l'état de glucose en chauffant pendant une heure dans de l'eau renferment 3 °/₀ d'acide chlorhydrique dont la densité est égale à 1.17. Le glucose est ensuite dosé à l'aide de la liqueur de Fehling.

Pour séparer les dextrines des hydrates de carbone insolubles dans l'eau, j'ajoute de l'eau à la matière épuisée par l'alcool et je chauffe pendant deux heures à 115° dans un autoclave. Je filtre ensuite sur de la laine de verre qui retient la matière insoluble dans l'eau. La filtration sur du papier donnerait certainement des résultats plus précis mais serait très longue. En opérant comme je l'ai fait, il peut se faire qu'une partie de l'amidon soit rendue soluble, mais l'erreur si elle existe est la même dans tous les cas ; on verra d'ailleurs par la suite que ce qu'il importe de connaître avec précision c'est plutôt

Digitized by Google

la somme des matières amylacées que leur distinction en matières amylacées solubles dans l'eau et insolubles dans l'eau. Les dextrines et autres matières amylacées solubles dans l'eau sont ensuite transformés en glucose par une ébullition d'une heure en présence de l'acide chlorhydrique. Une dissolution renfermant 3 °/₀ d'acide chlorhydrique paraît assez concentrée pour transformer toute la dextrine en glucose.

Il reste maintenant à doser les matières amylacées qui ont résisté à l'épuisement par l'alcool et l'eau. En se plaçant au point de vue physiologique qui me préoccupe seul, il y a lieu de doser tous les hydrates de carbone pouvant jouer directement ou indirectement le rôle d'aliment pour la plante. On sait que l'amidon remplit cette condition et quelquefois on le considère comme la remplissant seul. Or il est vraisemblable qu'une partie au moins des matières pectiques et de la cellulose qui constituent les parois des cellules peut servir d'aliment. Les albumens cornés et mucilagineux montrent en effet clairement que la cellulose et ses dérivés peuvent dans certaines circonstances jouer le rôle de réserve au même titre que l'amidon ou le sucre. D'autre part, il est incontestable que les parois cellulaires des tiges ou des racines sont essentiellement des organes de soutien et ne jouent que partiellement et accessoirement le rôle de réserve. Il y aurait donc lieu de distinguer, parmi les matières cellulosiques de la paroi, celles qui peuvent servir d'aliment et celles qui doivent être considérées comme formant le squelette de la plante, et c'est là précisément que réside la difficulté de la question.

Cette distinction entre les hydrates de carbone pouvant servir d'aliment et ceux qui ne le peuvent pas est comparable à la distinction faite par Palladine (1) entre les matières albuminoïdes de réserve et les matières albuminoïdes du protoplasma vivant. J'ai pensé que l'on pourrait se servir utilement de l'action de l'acide chlorhydrique et j'ai cherché à déterminer la proportion d'acide et la durée d'ébullition qui donnent les meilleurs résultats. Pour cela j'ai procédé de la façon suivante. J'ai pris 12 échantillons de deux grammes chacun d'une tige d'Amandier récoltée le 3 septembre ; l'ensemble de la tige ayant été préalablement réduite en poudre,

(1) Revue générale de Botanique, 1899.

Digitized by Google

les échantillons étaient aussi comparables que possible. Les échantillons 1, 4, 7 et 10 ont été traités par l'acide chlorhydrique à 3 °/₀, 2, 5, 8 et 11 par l'acide chlorhydrique à 5 °/₀, et 3, 6, 9 et 12 par l'acide chlorhydrique à 10 °/₀; d'autre part les échantillons 1, 2 et 3 ont été chauffés en présence de l'acide pendant trente minutes, 4, 5 et 6 pendant une heure, 7, 8 et 9 pendant deux heures, 10, 11 et 12 pendant trois heures. Les résultats obtenus sont renfermés dans le tableau suivant. La premjère ligne horizontale indique les quantités de glucose obtenues avec les échantillons 1, 4, 7 et 10 traités par l'acide à 3 °/₀ respectivement pendant 30′, 1 h., 2 h. et 3 h. ; la seconde ligne horizontale indique les quantités de glucose obtenues avec les échantillons 2, 5, 8 et 11 traités par l'acide à 5 °/₀ respectivement pendant 30′, 1 h., 2 h., et 3 h., enfin la troisième ligne horizontale indique les quantités de glucose obtenues avec les échantillons 3, 6, 9 et 12 traités par l'acide à 10 °/₀ respectivement pendant 30′, 1 h., 2 h. et 3 h.

Chauffé pendant	30 minutes	1 heure	2 heures	3 heures
Acide à 3 °/₀. .	0 gr. 294	0 gr. 400	0 gr. 490	0 gr. 520
— 5 °/₀. .	0 gr. 409	0 gr. 480	0 gr. 520	0 gr. 595
— 10 °/₀. .	0 gr. 520	0 gr. 581	0 gr. 595	0 gr. 595

Les quantités de matière traitées étant dans tous les cas exactement de 2 grammes, il est inutile de chercher la proportion de sucre pour cent de matière sèche, les nombres qui expriment les quantités de glucose obtenues sont comparables. En examinant les lignes horizontales, on voit que, pour une même proportion d'acide, les quantités de glucose augmentent avec la durée d'ébullition ; en examinant les lignes verticales, on voit que pour une même durée de l'ébullition, la quantité de glucose augmente avec la concentration de l'acide. On constate néanmoins que la quantité de glucose ne s'élève pas au-dessus de 0 gr. 595, même si on augmente la durée de l'ébullition ou la concentration de l'acide.

J'ai fait une expérience semblable avec des tiges de Fusain d'Europe ; les résultats ont été à peu près les mêmes que pour les tiges d'Amandier, comme l'indique le tableau suivant :

Chauffé pendant.	30 minutes	1 heure	2 heures	3 heures
Acide à 3 °/₀. .	0 gr. 186	0 gr. 255	0 gr. 324	0 gr. 367
— 5 °/₀. .	0 gr. 268	0 gr. 328	0 gr. 378	0 gr. 431
— 10 °/₀. .	0 gr. 364	0 gr. 405	0 gr. 442	0 gr. 450

Digitized by Google

La quantité de glucose obtenue augmente de moins en moins à mesure qu'on emploie un acide plus concentré. Il m'a semblé qu'il suffirait de traiter pendant 1 h. par l'acide à 10 %. D'ailleurs, comme j'ai constamment opéré dans ces conditions, les résultats sont comparables.

La concentration de l'acide et la durée de l'ébullition étant ainsi déterminées, il reste à savoir si l'on doit doser directement le glucose dans le liquide obtenu après avoir neutralisé et décoloré par le noir animal, ou s'il y a lieu de traiter par le sous-acétate de plomb. En faisant des expériences comparatives où le dosage du glucose est fait, tantôt après l'action du sous-acétate de plomb, tantôt sans que cette action ait eu lieu, j'ai évalué à environ 5 % du poids de la matière employée la quantité de glucose trouvée en plus lorsque le sous-acétate n'est pas employé. C'est là une proportion qui n'est pas négligeable. Mais d'autre part les substances éliminées par le sous-acétate sont le plus souvent des hydrates de carbone voisins des mucilages et qui peuvent être considérés comme aliments de la plante. Il m'a donc paru préférable de ne pas traiter par le sous-acétate de plomb.

Le séjour de la matière dans un autoclave à 115° modifie, comme on devait s'y attendre, la proportion relative des dextrines et des matières amylacées insolubles. Deux échantillons identiques de tiges d'Amandier ont été traités exactement de la même façon, sauf pour ce qui a trait à la séparation des dextrines et des matières amylacées insolubles. Pour le premier échantillon, les dextrines ont été séparées par filtration après une macération de la matière dans l'eau froide pendant 24 heures ; on a obtenu 0 gr. 047 de dextrine et 0 gr. 430 de matières amylacées insolubles. Pour le deuxième échantillon, les dextrines ont été séparées par filtration après une macération de la matière dans l'autoclave à 115° pendant deux heures ; on a obtenu 0 gr. 123 de dextrine et 0 gr. 367 de matières amylacées insolubles. J'ai adopté cette dernière façon de procéder et, dans tous les dosages qui font l'objet de ce travail, j'ai chauffé pendant 2 heures dans l'autoclave à 115°. Cette expérience montre également que le passage à l'autoclave augmente peu la somme des substances transformables en glucose.

Choix des échantillons. — Pour n'étudier que des plantes aussi comparables que possible, j'ai opéré de la façon suivante :

Digitized by Google

S'il s'agit par exemple du Poirier, je plante dans un champ d'expérience un certain nombre de jeunes plants âgés de deux ou trois ans et de même origine ; ces plants sont cultivés de la même façon et, au bout d'un an de végétation dans le champ d'expérience, je considère comme comparables ceux qui ont à peu près la même vigueur. Tous les 40 ou 50 jours environ, on arrache un pied et on fait un premier échantillon avec l'ensemble des tiges, un second avec l'ensemble des racines, et un troisième, s'il y a lieu, avec les feuilles. Ces trois échantillons sont ensuite, comme je l'ai dit, desséchés et broyés à part.

On peut faire à cette manière de procéder quelques objections. D'abord les divers plants d'une même culture ne présentent-ils pas entre eux des différences de compositions importantes ? Pour me rendre compte de la valeur de cette objection, j'ai récolté le même jour, dans une culture de Coignassiers, quatre plants présentant entre eux les différences extérieures les plus grandes. De plus, cette récolte a été faite le 17 mars, c'est-à-dire à l'époque où, par suite du départ plus ou moins hâtif de la végétation, les variations de composition sont les plus rapides et où par conséquent les différences entre deux plants voisins peuvent être les plus grandes. Voici les résultats que j'ai obtenus en analysant les tiges ; je désigne chacun des quatre plants par un des chiffres 1, 2, 3, 4. Les quantités de substance trouvées sont rapportées à 100 parties de matière sèche, comme du reste dans les autres tableaux du Chapitre 1.

Tiges	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
1	0.5	2.0	24.0	26.5
2	0.5	2.0	22.4	24.9
3	0.5	2.0	23.5	26.0
4	0.4	2.5	18.7	21.6

Les tiges 1, 2 et 3 sont aussi semblables qu'on pouvait l'espérer ; la tige 4 seule est sensiblement plus pauvre. Les racines ont donné les résultats suivants :

Racines	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
1	0.8	7.7	18.2	26.7
2	0.7	8.6	19.5	28.8
3	0.8	8 0	19.7	28.5
4	0.9	9.4	22.1	32.4

Digitized by Google

Pour les racines, les variations sont de même ordre que pour les tiges, mais en sens inverse. La racine 4, qui correspond à la tige la plus pauvre en matière de réserves, est elle-même beaucoup plus riche que les autres racines. Il s'établit ainsi, si l'on considère l'ensemble de la plante, une sorte de compensation. Si l'on prend, pour chacun des quatre pieds de Coignassier, la moyenne du total des hydrates de carbone renfermés d'une part dans la tige et d'autre part dans la racine, on obtient les nombres suivants :

1 . . .	26.6
2 . . .	26 8
3 . . .	27.2
4 . . .	27.0

Il en résulte, en admettant que pour chaque plante le poids des tiges soit égal au poids des racines, que la composition des quatre plantes est à peu près la même. La particularité que présente la plante 4 peut d'ailleurs s'expliquer très-simplement. Au mois de mars en effet, au moment du départ de la végétation, il se produit une migration des matières de réserves de la racine vers la tige. Dans le pied 4, cette migration s'est produite plus tôt que dans les trois autres pieds, la végétation étant un peu plus avancée.

J'ai fait les mêmes mesures, et dans les mêmes conditions, pour quatre plants de Poirier ; j'ai obtenu les résultats suivants :

Tiges	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
1	2.1	3.3	19.1	24.5
2	2.7	2.6	19 7	25.0
3	2.7	3.1	20.1	25.9
4	3.4	2.3	20.2	25.9
Racines	—	—	—	—
1	0.9	5.3	25 8	32.0
2	1 4	5.6	26.8	33.8
3	1.8	6.7	26.2	34.7
4	0.5	6.2	25.4	32.1

La plus grande différence entre les proportions de réserves dans deux tiges est donc de 25,9 — 24,5 = 1,4. Pour les racines, cette différence, un peu plus grande, est de 34,7 — 32,0 = 2,7. Dans l'appréciation des résultats énoncés dans le courant de ce travail, il y aura lieu de tenir compte de la possibilité des variations individuelles du même ordre que celles que je viens de signaler.

Les arbres que j'ai analysés sont jeunes, âgés en général de 4 à

Digitized by Google

6 ans seulement; cette circonstance présente certains avantages. D'abord il est plus facile d'avoir des arbres comparables en les prenant jeunes ; puis, les arbres jeunes sont plus faciles à déraciner à peu près complètement et on peut sans difficulté recueillir et préparer l'ensemble des tiges et l'ensemble des racines. Mais d'autre part, on peut objecter que les arbres jeunes peuvent avoir une composition très différente des arbres vieux et que les variations de composition peuvent être aussi différentes.

Pour répondre à cette objection, j'ai pris, sur un arbre âgé d'une quinzaine d'années environ et qu'on pouvait considérer comme adulte, des échantillons choisis de la façon suivante :

1° Tige d'un an ;

2° Tige de 12 ans considérée dans son ensemble ;

3° Partie libérienne et corticale d'une tige de 12 ans ;

4° Couches les plus externes du bois secondaire d'une tige de 12 ans ;

5° Couches les plus internes du bois secondaire d'une tige de 12 ans.

J'ai opéré ainsi sur un Coignassier et sur un Châtaignier, d'abord le 30 janvier, puis le 21 mai, l'expérience m'ayant montré que ces deux époques étaient à peu près celles ou les réserves sont relativement très abondantes (janvier) où très peu abondantes (mai). L'analyse des échantillons récoltés au mois de janvier m'a donné les résultats suivants :

Coignassier	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
Tige d'un an . .	0.9	2.2	21.4	24.5
Tige de 12 ans. .	1.6	2.2	19.6	23.4
Liber.	2.7	2.5	13.4	18.6
Bois jeune . . .	0.9	2.0	21.6	24.5
Bois âgé. . . .	0.9	1.4	20.3	22.6
Châtaignier	—	—	—	—
Tige d'un an . .	3.7	2.5	12.7	18.9
Tige de 12 ans. .	2.4	2.3	13.8	18.5
Liber.	7.1	3.3	7.8	18.2
Bois jeune . . .	4.2	2.4	18.0	24.6
Bois âgé. . . .	0.1	1.2	16.8	18.1

La différence de composition entre une tige d'un an et une tige beaucoup plus âgée est donc très faible au point de vue des réserves hydrocarbonées ; elle est de 1,1 °/₀ pour le Coignassier et de 0,4 °/₀ pour le Châtaignier. En décomposant une tige âgée en

Digitized by Google

trois parties comprenant l'une le liber, l'autre les couches de bois les les plus jeunes et la troisième les couches de bois les plus âgées, on constate d'abord que les réserves hydrocarbonées sont plus abondantes dans le bois que dans le liber et plus abondantes aussi dans le bois jeune que dans le bois âgé. C'est donc surtout dans les bois secondaires, et dans les couches les moins âgées de ce bois, que s'accumulent les réserves hydrocarbonées et en particulier les matières amylacées insolubles dans l'eau.

Les échantillons récoltés au mois de mai m'ont fourni les résultats suivants :

Coignassier	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
Tige d'un an . .	0.5	2.0	19.8	22.3
Tige de 12 ans. .	0.6	1.5	20.2	22.3
Liber.	1.5	2.4	13.1	17.0
Bois jeune . . .	0.5	1.4	21.5	23.4
Bois âgé. . . .	0.4	1.3	20.9	22.6
Châtaignier.	—	—	—	—
Tige d'un an . .	1.9	1.8	11.5	15.2
Tige de 12 ans . .	0.9	1.9	14.7	17.5
Liber.	2.7	2.9	8.3	13.9
Bois jeune . . .	0.7	1.5	18.3	20.5
Bois âgé. . . .	0.1	1 3	14.2	15.6

Ce second tableau montre que les variations de composition se produisent dans le même sens pour les tiges jeunes, pour les tiges âgées et pour les diverses régions des tiges âgées. D'autre part, j'ai constaté qu'une tige jeune d'un arbre âgé, a la même composition qu'une branche du même âge dans un arbre jeune. On peut donc étudier la composition et les variations des réserves hydrocarbonées dans les arbres, en se bornant à prendre des échantillons sur de très jeunes arbres ; il est légitime d'étendre aux arbres plus âgés les résultats ainsi obtenus.

On peut se demander encore si, au point de vue de la variation des réserves, toutes les années se ressemblent et si l'influence des agents atmosphériques ne jette pas quelques perturbations dans la marche ordinaire des variations. On conçoit que pour répondre d'une façon nette à cette question, il faudrait avoir suivi certains arbres pendant plusieurs années différant entre elles par les conditions atmosphériques. Pour toutes les espèces que j'ai étudiées, j'ai fait des dosages pendant au moins une année ; ayant commencé par exemple au mois de janvier d'une année, j'ai continué jusqu'au

Digitized by Google

mois de janvier de l'année suivante ; le plus souvent j'ai retrouvé une composition à peu près identique à celle que j'avais trouvée l'année précédente ; par conséquent, au moins dans ces cas-là, il n'y a pas eu de changement entre les époques correspondantes de deux années consécutives. Mais on peut très bien admettre que des différences considérables dans les conditions atmosphériques aient un retentissement dans la composition des réserves. C'est là une question qui pourrait être étudiée. Les années 1901, 1902 et 1903 pendant lesquelles furent recueillis les échantillons que j'ai étudiés me paraissent pouvoir être considérées comme normales au point de vue de la température et de l'humidité du sol, j'admettrai donc que la composition et les variations des réserves que j'ai observées sont normales.

Les travaux qui ont été publiés sur les matières de réserve des tiges et des racines sont presque tous relatifs exclusivement à l'amidon. Cette substance a en effet le grand avantage de pouvoir être étudiée au microscope à l'aide de réactifs très simples. C'est ainsi que M. Mer (1) a étudié les variations qu'éprouve la réserve amylacée des arbres aux diverses époques de l'année. Si l'on ne tient pas compte des différences spécifiques, d'ailleurs non essentielles, que présentent les divers arbres, les recherches de M. Mer peuvent se résumer de la façon suivante : la réserve amylacée passe par un maximum pendant l'été (du 20 juin au 20 septembre), puis l'amidon diminue et pendant l'hiver est très peu abondant ou même manque complètement ; au printemps (du 10 mars au 10 mai) l'amidon se reforme pour disparaître de nouveau. (du 10 mai au 20 juin). Mais M. Mer entend par réserve amylacée seulement les grains d'amidon visibles au microscope ; il ne fait pas de dosage et par conséquent ne tient pas compte des matières amylacées solubles ou de celles qui font partie de la membrane cellulaire. On verra dans quelle mesure les dosages quantitatifs donnent des résultats différents de ceux obtenus par M. Mer.

M. d'Arbaumont a étudié dans un volumineux mémoire (2) l'évo-

(1) E. Mer : Des variations qu'éprouve la réserve amylacée des arbres aux diverses époques de l'année (Bulletin de la Société botanique de France, t. 45, p. 299, 1898).

(2) D'Arbaumont : Sur l'évolution de la chlorophylle et de l'amidon dans la tige de quelques végétaux ligneux (Annales des Sciences naturelles ; Botanique, 8me série, t. 13 et 14, 1901).

Digitized by Google

lution de la chlorophylle et de l'amidon dans les plantes ligneuses ; comme M. Mer dont il a d'une façon générale vérifié les conclusions, il s'est borné à des observations au microscope ; il a étendu ses recherches à un très grand nombre d'exemples et a précisé pour chaque espèce l'époque où l'amidon apparaît ou disparaît.

Schulze (1) a montré par des analyses quantitatives que la cellulose pouvait servir de matière de réserve et a étudié spécialement, à ce point de vue, la germination des graines de Lupin. Cet auteur propose le nom *d'hémicellulose* pour désigner la cellulose qui joue le rôle de réserve.

Pour Potter (2) l'action du mycélium d'un Champignon parasite peut ramener le bois à l'état de cellulose ; on pourrait en conclure que, dans ce cas, la lignine joue un rôle de matière nutritive pour le Champignon.

Dans le tome 2 de son ouvrage sur la Chimie végétale et agricole, M. Berthelot a publié un nombre considérable d'analyses destinées à faire suivre la marche de la végétation chez plusieurs plantes parmi lesquelles est une plante ligneuse, le *Robinia pseudo-Acacia*. M. Berthelot a poursuivi un but tout autre et d'ailleurs beaucoup plus complexe que celui que je me suis proposé ; il étudie les jeunes pousses (tiges, feuilles, fleurs et fruits) et dose aux diverses époques de l'année, la proportion de cendres et de matières organiques, puis les divers éléments des cendres et la quantité de carbone d'hydrogène, d'azote et d'oxygène de la matière organique et établit en quelque sorte la formule chimique de la plante.

M. Berthelot a également fait de très nombreuses expériences sur l'azote des plantes ; mais il a eu surtout pour but de rechercher le rôle et le mode de formation des nitrates dans les plantes et n'a pas étudié la matière azotée considérée comme réserve.

II. — Réserves hydrocarbonées des tiges et des racines.

Châtaignier. — Les tableaux 1 et 2 indiquent les résultats des dosages faits avec les racines et les tiges du Châtaignier ; les arbres

(1) Schulze : Ueber die Zellwandbestantheile der Cotyledonen von *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* und über ihr Verhallen warhend des Keimungs-vorgangs (Berichte der d. bot. Gesellschalt, tome XIV, p. 76, 1896).

(2) Potter, M. C. : On the occurence of cellulose in the Xylem of woody stems (Annals of Botany, tome XVIII, janvier 1904).

Digitized by Google

qui ont servi aux expériences étaient âgés de 4 à 5 ans et étaient plantés depuis deux ans dans le champ d'expérience lorsque les premiers ont été arrachés. J'ai dosé séparément les sucres, les matières amylacées solubles dans l'eau, et les matières amylacées insolubles dans l'eau. La première colonne verticale indique la quantité de matière employée, les trois autres indiquent les quantités trouvées pour les sucres, les matières amylacées solubles et les matières amylacées insolubles.

Tableau 1 (Racine) (1)

	Poids de la matière étudiée	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles
	gr.			
11 janvier . .	3.518	0.083	0.238	0 657
26 février . .	2.141	0.097	0.135	0.316
28 mars . .	2.452	0.083	0.143	0.384
20 mai . . .	2.000	0.062	0.067	0.268
22 juin . .	3.518	0.127	0.213	0.431
27 juillet . .	3.511	0.128	0.240	0.490
12 septembre.	3.532	0.066	0.416	0.595
19 octobre .	3.512	0.056	0.274	0.694
22 novembre .	3.527	0.040	0.271	0.714
12 décembre .	3.540	0.068	0.227	0.675

Tableau 2 (Tige)

11 janvier . .	3.514	0.141	0.164	0.566
26 février . .	3.510	0.153	0.157	0.563
28 mars . .	3.508	0.095	0.113	0.549
20 mai . . .	3.517	0.082	0.115	0.510
22 juin . . .	3 512	0.077	0.125	0.520
27 juillet . .	3.500	0.092	0 083	0.566
12 septembre.	3.515	0.080	0.144	0.694
19 octobre. .	3.528	0.078	0.143	0.714
22 novembre .	3.508	0.113	0.130	0.625
12 décembre .	3.501	0.131	0.100	0 580

Les tableaux 3 et 4 donnent les mêmes résultats que les précédents, mais sous une autre forme ; les quantités de matières dosées y sont rapportées à 100 parties de matière sèche : les résultats deviennent ainsi beaucoup plus facilement comparables et permettent de suivre clairement la marche des variations.

Sur les tableaux 3 et 4, on constate d'abord qu'à la fin de l'année

(1) Dans les tableaux 1 et 2 l'unité est le gramme ; dans tous les autres relatifs aux réserves hydrocarbonées des racines et des tiges, le poids de chaque substance est rapporté à 100 parties de matière étudiée.

Digitized by Google

les réserves hydrocarbonées ont à peu près la même importance relative qu'au commencement ; la chose devait être considérée comme probable car, à la même époque de l'année, les arbres doivent avoir la même composition ; néanmoins il aurait pu se faire que, les conditions climatériques variant d'une année à l'autre, l'état de la végétation fût différent et que par conséquent la composition de réserve fût changée.

Tableau 3 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
11 janvier . .	1.9	6.7	18.6	27.2
26 février . .	4.7	6.3	14.7	25.7
23 mars . .	3.3	5.8	15.6	24.7
20 mai . . .	3.1	3.3	13.4	19 8
22 juin . . .	3.6	6.0	12.2	21.8
27 juillet . .	3 6	6.8	13.9	24.3
12 septembre .	1.8	11.7	16.8	30.3
19 octobre. .	1 6	7.8	19.7	29.1
22 novembre	1.1	7.6	20.2	28.9
12 décembre .	1.9	6.4	19.0	27.3

Tableau 4 (Tige)

11 janvier . .	4.0	4.6	16.1	24.7
26 février . .	4.3	4.4	16.0	24.7
23 mars . .	2.7	3.2	15.6	21.5
20 mai . . .	2 3	3.2	14.4	19.9
22 juin . . .	2.1	3 5	14 8	20.4
27 juillet . .	2 6	2.4	16 1	21.1
12 septembre .	2.2	4.0	19.7	25.9
19 octobre. .	2.2	4.0	20 2	26.4
22 novembre .	3.2	3.7	17.8	24.7
12 décembre .	3 7	2.8	16.5	23.0

Examinons plus spécialement le tableau 3 relatif à la racine ; la 4me colonne montre que l'ensemble des réserves diminue de janvier en mai, lentement d'abord, puis plus rapidement. A partir du mois de mai, la proportion des réserves augmente jusqu'au mois de septembre, passe sur un maximum, puis diminue lentement jusqu'au mois de janvier. L'une des courbes de la figure 1 indique la marche de ces variations. Le minimum a lieu au printemps lorsque la végétation à son début est très active, et le maximum à l'automne lorsque les organes d'assimilation chlorophyllienne ont fonctionné pendant toute la belle saison.

Digitized by Google

Les racines du Châtaignier se conduisent donc comme des organes de réserve. Au printemps, lorsque la végétation est rapide, la plante consomme plus qu'elle n'assimile et puise dans les racines les matières hydrocarbonées nécessaires à la formation des nouvelles branches et des nouvelles racines ; puis la croissance se ralentit en même temps que l'assimilation augmente par suite du développement du système foliaire ; les hydrates de carbone formés dans les parties vertes vont alors s'emmagasiner dans la racine. A l'automne, lorsque les feuilles commencent à tomber, les réserves atteignent leur maximum. A partir de la chute des feuilles et pendant toute la morte saison, les réserves diminuent au

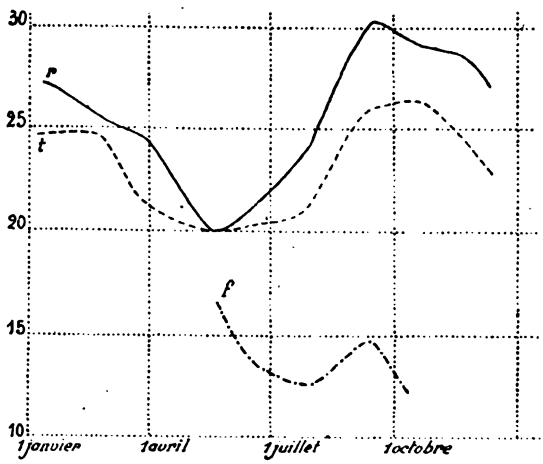


Fig 47. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone dans le Châtaignier : *r*, racine; *t*, tige; *f*, feuille.

lieu de rester constantes comme on aurait pu le supposer. Ce résultat peut s'expliquer en partie par ce fait que, l'assimilation chlorophyllienne étant suspendue, la respiration continue et par conséquent consomme des hydrates de carbone. Mais on sait que pendant l'hiver la respiration est très peu intense, il est donc probable qu'il faut chercher ailleurs l'explication complète de la diminution des réserves pendant l'hiver. Cette diminution porte surtout, comme l'indique le tableau 4, sur les matières amylacées insolubles dans l'eau. Or, on sait d'après les travaux de MM. Mer et d'Arbaumont que l'amidon, très abondant au commencement de l'automne, disparaît peu à peu et arrive en général à manquer com-

Digitized by Google

plètement vers le mois de décembre. Il est donc naturel que la disparition des grains d'amidon coïncide avec une diminution de la teneur en matière amylacée.

La proportion de sucre est surtout grande à la fin de l'hiver et au printemps; le sucre semble être dans les arbres moins une matière de réserve que la forme sous laquelle les autres matières de réserve deviennent mobiles et assimilables. Au mois de février, un peu avant le départ de la végétation, l'augmentation de la proportion du sucre indique le commencement de la digestion et de la mobilisation des réserves ; du mois de septembre au mois de janvier, la faible proportion de sucre indique au contraire un repos relatif de l'activité de la plante.

En comparant le tableau 3 au tableau 4, on voit que les variations des réserves hydrocarbonées se font dans le même sens pour la tige que pour la racine. Il y a un minimum au printemps, et un maximum en automne. Mais la quantité de réserve ainsi que la différence entre le maximum et le minimum, sont moins grandes dans la tige ; le caractère d'organe de réserve est donc beaucoup moins net que dans la racine. Les courbes de la figure 1 montrent clairement les différences qui existent à cet égard entre la tige et la racine.

Les résultats du dosage de l'ensemble des réserves hydrocarbonées ne pouvaient être prévues par les observations de MM. Mer et d'Arbaumont sur les grains d'amidon. L'accumulation de l'amidon de juin en septembre correspond bien à une augmentation des réserves hydrocarbonées et la disparition de l'amidon en automne correspond bien à une diminution de ces mêmes réserves ; mais la diminution des réserves commence plus tard que la disparition de l'amidon ; de plus, la diminution des réserves est relativement faible, tandis que la disparition de l'amidon est souvent complète. Il n'y a aucune contradiction entre ces résultats ; on doit simplement en conclure que l'amidon qui disparaît en automne se transforme, pour une grande partie, en d'autres hydrates de carbone, tels que l'hemicellulose, que l'action des acides transforme en glucose dosable par la liqueur de Fehling ; je reviendrai d'ailleurs sur le rôle de la cellulose comme matière de réserve.

La réapparition de l'amidon de mars en mai correspond, surtout en mai, à une diminution importante dans la proportion de

Digitized by Google

réserve hydrocarbonée. Cette contradiction apparente peut facilement s'expliquer. Au moment de la reprise de la végétation, les réserves qui, on le sait, comprennent alors peu d'amidon, sont en effet transformées et mobilisées pour servir à la formation rapide des nouvelles pousses. Or, on sait que pendant les périodes de transformation, les réserves non azotées prennent souvent la forme de grains d'amidon qu'on appelle pour cette raison l'amidon transitoire ; c'est ce qui a eu lieu au début du printemps dans les plantes ligneuses. Puis, à la fin mai, lorsque la digestion des anciennes réserves est achevée, on ne voit plus d'amidon ; plus tard, lorsque de nouvelles réserves se forment, grâce à l'assimilation intense des feuilles, l'amidon apparaît de nouveau, mais alors c'est véritablement de l'amidon de réserve.

Cette comparaison entre les résultats des analyses quantitatives et ceux des observations au microscope montrent qu'on a beaucoup exagéré l'importance de l'amidon comme matière de réserve. L'amidon est simplement une des formes des réserves hydrocarbonées, la seule qu'on puisse observer au microscope, mais pas toujours la plus importante. En hiver, par exemple, l'amidon peut faire complètement défaut alors que les réserves hydrocarbonées sont abondantes. On sait de plus que dans beaucoup de bulbes et de tubercules l'amidon manque complètement ou n'existe qu'en très petite quantité.

Poirier (tableau 5 et 6, fig. 48). — Les tableaux 5 et 6 sont établis pour le Poirier comme les tableaux 3 et 4 pour le Châtaignier ; il m'a paru inutile d'indiquer la quantité de matière sur laquelle j'ai opéré, cette quantité étant toujours voisine de 3 grammes.

Tableau 5 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
19 janvier . .	1.7	6.7	26.7	35.1
26 février . .	1.4	6.4	24.9	32.7
28 mars . .	1 3	5.6	24.5	31.4
9 mai . . .	1.7	3.4	22.1	27.2
17 juin . . .	1.1	7.0	23.1	31.2
22 juillet . .	0.5	6 2	24.5	31.2
7 septembre.	0.7	6.0	24.9	31.6
16 octobre. .	0.7	7.9	27.3	35.9
22 novembre .	0 7	6.7	27.9	35.3
26 décembre .	2.5	7.6	25.3	35.4

Digitized by Google

Tableau 6 (Tige)

19 janvier . .	4.6	3.2	15.8	23.6
26 février . .	4.3	2.3	15.1	21.7
28 mars . .	3.9	2.6	17.8	24.3
9 mai . . .	3.6	2.1	15.9	21.6
17 juin . . .	3.3	2.3	16.6	22 2
22 juillet . .	2.9	2.3	17.4	22.6
7 septembre .	2.1	3.0	19.4	24.5
16 octobre. .	2.4	3.6	17.4	23.4
22 novembre .	2.9	3.3	17.2	23.4
26 décembre .	3.7	3.2	16.5	23.4

La marche générale de la variation des réserves est la même que dans le Châtaignier. On peut cependant signaler quelques différences qui ressortent de la comparaison des figures 47 et 48. D'abord, la racine du Poirier renferme une plus grande proportion de réserve que celle du Châtaignier ; puis, le maximum atteint au mois d'octobre se maintient presque sans variation jusqu'au mois de janvier, bien que l'amidon diminue considérablement.

La tige présente des variations bien moindres que la racine ; entre le maximum et le minimum, il y a à peine 3 °/₀ ; le caractère d'organe de réserve est donc très peu marqué. La somme des réserves après avoir diminué de janvier à février, augmente au mois de mars pour diminuer ensuite. Cette irrégularité qui n'existe pas dans le Châtaignier peut s'expliquer très simplement. Au mois

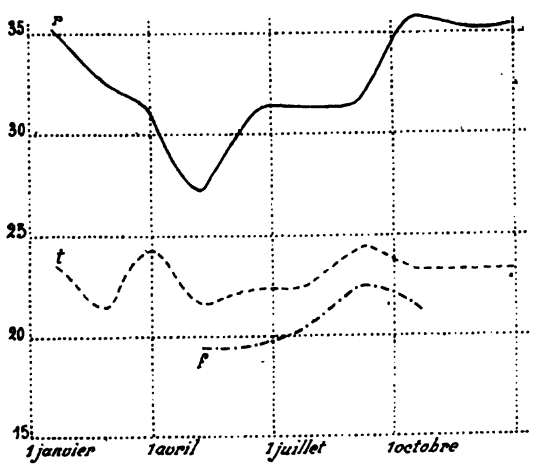


Fig. 48. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone dans le Poirier ; *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

Digitized by Google

de mars, en effet, avant le départ de la végétation, les réserves de la racine montent dans la tige pour être employées à la formation des jeunes pousses. Cette migration des réserves de la racine vers la tige avant l'ouverture des bourgeons s'effectue d'ailleurs d'une façon assez irrégulière. On a vu à la page 346 où sont étudiés 4 pieds de Coignassiers aussi comparables que possible et arrachés au mois de mars, que la migration avait été beaucoup plus importante chez l'un que chez les trois autres.

Coignassier (tableaux 7 et 8, fig. 49). — La proportion de sucre est ici relativement très faible. La racine renferme à peine plus de réserve que la tige et dans tous les cas en contient moins que la racine du Poirier. La figure 49 montre que les variations sont en quelque sorte parallèles dans la racine et dans la tige ; ces deux membres de la plante jouent donc dans la même mesure le rôle d'organe de réserve.

Tableau 7 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées		Total
		solubles	insolubles	
16 janvier . .	0.9	3.7	24.0	28.6
26 février . .	1.2	3 9	23.3	28.4
28 mars . .	1.0	3.9	23.0	27.9
9 mai . . .	0.1	3.0	20.0	23.1
17 juin. . .	0.1	3.1	19.2	22.4
22 juillet . .	0.0	3.0	20.3	23.3
7 septembre.	0.3	4.1	20.3	24.7
16 octobre. .	0.2	4.6	22.1	26.9
22 novembre .	0.1	5.9	21.7	27.7
26 décembre .	2.1	5.0	19.7	26.8

Tableau 8 (Tige)

16 janvier. .	1.6	1.1	22.3	25.0
26 février . .	1.1	2.1	20.9	24.1
28 mars . .	0.9	1.7	17.7	20.3
9 mai . . .	1.1	1.8	15.7	18.6
17 juin. . .	0.7	2.0	16.9	19.6
22 juillet . .	0.5	1.7	17.8	20.0
7 septembre.	0.4	2.2	18.2	20 8
16 octobre. .	0 5	1.6	20.2	22.3
22 novembre.	0.8	2.2	20.2	23.2
26 décembre .	1.2	2.2	21.5	24.9

Digitized by Google

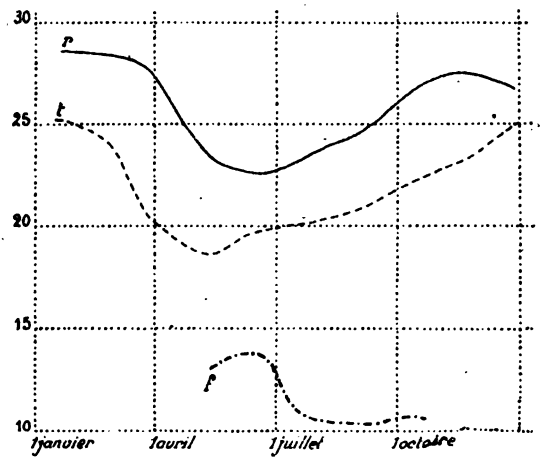


Fig. 49. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone dans le Cognassier ; *r*, racine, *t*, tige ; *f*, feuille.

Pêcher (tableaux 9 et 10, fig. 50). — L'amplitude des variations de la racine est dans cet exemple plus grande que dans les précédents puisqu'elle atteint 13 °/₀. Au mois de mai, lorsque les réserves passent par leur minimum, la racine en renferme même un peu moins que la tige.

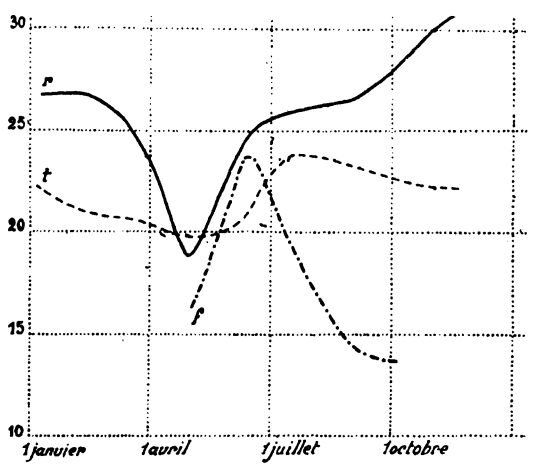


Fig 50. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone dans le Pêcher ; *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

Digitized by Google

Tableau 9 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
7 janvier. .	3.0	5.0	18.8	26.8
9 février . .	3.0	4.8	19.1	26.9
20 mars . .	1.4	7.0	16.4	24.8
1 mai. . .	2.2	2.6	14.0	18.8
12 juin. . .	2.3	4.1	18.5	24.9
18 juillet . .	1.9	6.1	18.0	26.0
3 septembre.	1.2	5.0	20.3	26.5
12 octobre. .	1.4	5.9	21.4	28.7
19 novembre.	1.1	8.8	21.5	31.4

Tableau 10 (Tige)

7 janvier. .	3.0	2.6	16.5	22.1
9 février . .	2.2	1.7	17.1	21.0
20 mars . .	2.8	1.4	16.4	20.6
1 mai. . .	2.4	1.3	16.1	19.8
12 juin. . .	2.1	1.4	17.3	20.8
10 juillet . .	2.2	2.6	19.1	23.9
3 septembre.	1.5	1.9	19.7	23.1
12 octobre. .	1.7	1.8	19.1	22.6
19 novembre.	2.6	2.2	17.6	22.4

Saule (tableaux 11, 12, 13 et 14, fig. 51). — Les pieds qui ont servi à mes expériences ont été obtenus par bouturage de tiges de deux ans et ont été récoltés à partir de deux ans après le bouturage. Les feuilles étant mises à part, j'ai divisé le reste de l'appareil végétatif en 4 lots : 1° Les tiges d'un à deux ans poussées sur la bouture, 2° la partie de la bouture qui était au-dessus du sol, 3° la partie de la bouture qui était dans le sol, 4° les racines. Je comparerai d'abord les lots 1 et 4 qui correspondent à peu près aux parties des plantes étudiées pour les autres espèces ; puis je comparerai les lots 2 et 3 pour voir l'influence du milieu souterrain sur la répartition des réserves.

Les tableaux 11 et 12 et la figure 51 indiquent les variations des réserves dans les racines et les tiges de deux ans. Dans la racine, l'amplitude des variations est beaucoup plus grande que dans les autres plantes étudiées ; le maximum du mois d'octobre, 29,4 °/o, est plus du double du minimum du mois d'avril, 14.6. L'augmentation qui se produit d'avril en octobre correspond à la période de formation de l'amidon et la diminution de l'automne correspond à la disparition de l'amidon.

Digitized by Google

Tableau 11 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
11 janvier. .	4.9	5.9	11.5	22.3
1 mars . .	5.2	3.9	10.0	19.1
1 avril . .	2.7	2.9	9.0	14.6
20 mai. . .	3.7	2.5	10.0	16.2
22 juin. . .	4.4	3.0	9.7	17.1
26 juillet . .	5.1	3.3	10.5	18.9
12 septembre.	3.8	6 1	11.9	21.8
19 octobre. .	2.5	11.8	15.1	29.4
19 novembre.	2.4	8.6	16.2	27.2
26 décembre.	4.3	5 2	11.2	20.7

Tableau 12 (Tige)

11 janvier. .	5.3	3.9	10.3	19.5
1 mars . .	4.3	4.3	10.0	18.6
1 avril . .	2.7	3.7	10.3	16.7
20 mai . .	4.2	3.7	10.4	18.3
22 juin. . .	3.2	3.6	11.8	18.6
26 juillet . .	3.7	3.7	12.1	19.5
12 septembre	2 8	5.4	13.1	21.3
19 octobre. .	2.5	5.6	13.3	21.4
19 novembre.	2.8	5.7	11.5	20.0
26 décembre.	4.1	5.2	10.4	19.7

Cette diminution des réserves à partir du mois d'octobre est beaucoup plus sensible que dans les autres exemples. Cela tient sans doute à ce qu'une grande partie de la cellulose formée aux

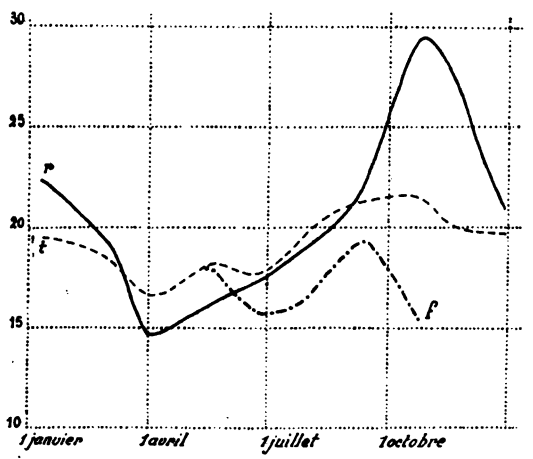


Fig. 51. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone dans le Saule, *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

Digitized by Google

dépens de l'amidon est inattaquable par les acides. Les variations dans la tige sont beaucoup plus faibles ; pendant la plus grande partie du printemps et de l'été, les réserves sont même plus abondantes dans les tiges que dans les racines ; le rôle de la tige comme organe de réserve est donc ici peu accusé. Il est à remarquer aussi que la proportion de sucre est plus considérable dans le Saule que dans les autres arbres.

La tige du Saule est un bon exemple pour montrer l'existence de la cellulose de réserve. Au mois de février en effet, lorsque l'amidon a presque complètement disparu et que l'analyse dénote encore la présence de réserves abondantes, on voit sur la face interne des cellules du bois secondaire une couche de cellulose *c* qui n'adhère qu'incomplètement à la partie lignifiée *l* de la paroi (fig. 52). Au mois de mai, lorsque les réserves passent par leur minimum, cette couche de cellulose a disparu dans la plupart des cellules du bois secondaire et, là où elle subsiste encore, elle est beaucoup plus mince. Cette couche *c* de la membrane constitue donc une réserve de cellulose. D'autre part, si l'on fait des coupes assez épaisses dans une tige au mois de février et si on les traite par l'acide chlorhydrique comme pour produire la saccharification des matières amylacées on constate que la partie interne *c* des parois disparaît ; c'est une raison de plus pour penser que c'est de la cellulose de réserve.

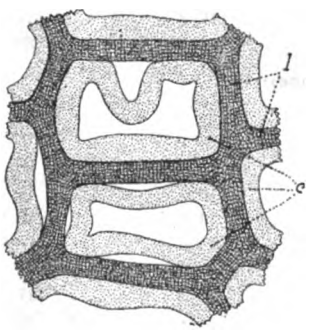


Fig. 52. — Cellules de bois du Saule en hiver ; *l*, partie lignifiée et *c*, partie cellulosique de la membrane.

Les variations des réserves, d'une part dans la partie souterraine de la tige qui a servi à faire la bouture, et d'autre part dans la partie aérienne de la même tige, sont représentées par les tableaux 13 et 14. On voit qu'au point de vue qui nous occupe la partie souterraine ressemble à la racine ; les réserves y sont plus abondantes que dans la partie aérienne ; le sens des variations est le même dans les deux cas, mais dans la partie souterraine, la différence entre le maximun d'automne et le minimum du prin-

Digitized by Google

temps est plus considérable, le rôle d'organe de réserve y est mieux accusé.

Tableau 13 (Tige souterraine).

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
11 janvier . .	2.4	2.2	13.6	18.2
1 mars . .	2.2	1.9	13.3	17.4
1 avril . .	1.1	1.4	12.4	14.9
20 mai . .	2.2	2.3	10.7	15 2
22 juin . . .	1.0	2.2	11.9	16.0
26 juillet . .	3.1	3.6	11.5	18.2
12 septembre .	2.6	5.0	13.6	21.2
19 octobre . .	1.6	6.5	11.7	19.8
19 novembre .	2 2	5.3	12.0	19.5
26 décembre	3.7	4.1	11.3	19.1

Tableau 14 (Tige aérienne)

11 janvier . .	2 8	2.4	11.2	16.4
1 mars . .	2 7	2.5	10.9	16.1
1 avril . .	1.7	2.4	11.2	15.3
20 mai . . .	2.3	2.3	10.9	15.5
22 juin . . .	1.9	2.3	12.0	16.2
26 juillet . .	2.3	2.9	12.3	17.5
12 septembre .	1.7	4 6	13.1	19.4
19 octobre . .	1.4	4.0	11.4	16.8
19 novembre .	2 2	3.3	11.0	16.5
26 décembre .	2.7	3.6	10 6	16.7

Ce résultat confirme les observations faites par M. Costantin relativement à l'influence du milieu sur la formation de l'amidon ; mais on voit de plus que les réserves sont plus abondantes dans la partie souterraine non seulement pendant la saison où l'amidon existe mais encore en hiver où l'amidon fait complètement défaut ; les réserves de cellulose sont donc aussi favorisées par le milieu souterrain.

Framboisier (tableaux 15 et 16, fig. 53). — Le Framboisier est un arbuste à feuilles caduques dont la végétation est assez particulière ; les racines ainsi que la base souterraine des tiges sont vivaces et ont une durée indéterminée ; au printemps, des pousses feuillées prennent naissance sur les parties souterraines et acquièrent un assez grand développement : l'année suivante, ces tiges se ramifient et portent des fleurs, puis elles se dessèchent et meurent ; les tiges aériennes, bien que ligneuses, sont donc seulement bisannuelles. Pour étudier leur évolution, il est donc nécessaire de les

Digitized by Google

suivre pendant deux ans. J'ai récolté les premiers matériaux d'études au mois d'avril, lorsque les nouvelles pousses sont sorties de terre et j'ai continué ensuite à intervalles plus ou moins éloignés jusqu'à ce que les tiges correspondant à celles de la première récolte soient desséchées, c'est-à-dire jusqu'au mois d'octobre de la seconde année. Les racines étant vivaces et par conséquent présentant dans leur développement une périodicité annuelle, il m'a suffi de les suivre pendant une seule année.

Le tableau 15 représente les variations des réserves dans la racine. Comme pour les racines des arbres, il y a un maximum en octobre et un minimum en avril.

Tableau 15 (Racine)

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
20 mars . .	1.6	5.0	15.8	22.4
24 avril . .	3.0	3.4	13.9	20.3
9 juin . . .	2.9	4.3	16.3	23.5
25 juillet . .	2.5	4.9	17.2	24.6
6 septembre .	2.0	6.0	19.1	27.1
25 octobre . .	1.7	8.9	18.3	28.9
15 décembre .	2.3	6.5	16.4	25.2
2 février . .	3.8	4.8	14.7	23.3

Tableau 16 (Tige)

24 avril . .	9.0	3.5	9.7	22 2
9 juin . . .	3.9	3.3	14.4	21 6
25 juillet . .	2.6	3.4	14.5	20.5
6 septembre .	1.9	4.6	15.0	21.5
25 octobre . .	2.8	4.4	15.9	23.1
15 décembre .	2.7	2.8	14.0	19.5
2 février . .	3.9	2.5	12.7	19.1
20 mars . .	2.8	2.7	14.6	20.1
24 avril . .	4.2	3.1	13.3	20 6
9 juin . . .	3.9	2.1	13.6	19.6
25 juillet . .	0.6	1.8	14.8	17.2
6 septembre .	0.3	1.8	13.8	15.9
25 octobre . .	0.3	1.6	14.2	16.1

La racine joue donc très nettement le rôle d'organe de réserve. On vérifie d'ailleurs, sur le tableau 15 comme aussi sur la figure 53, qu'au bout d'une année, après avoir passé par un minimum en avril et un maximum en octobre, la proportion des réserves redevient la même qu'un an avant.

Digitized by Google

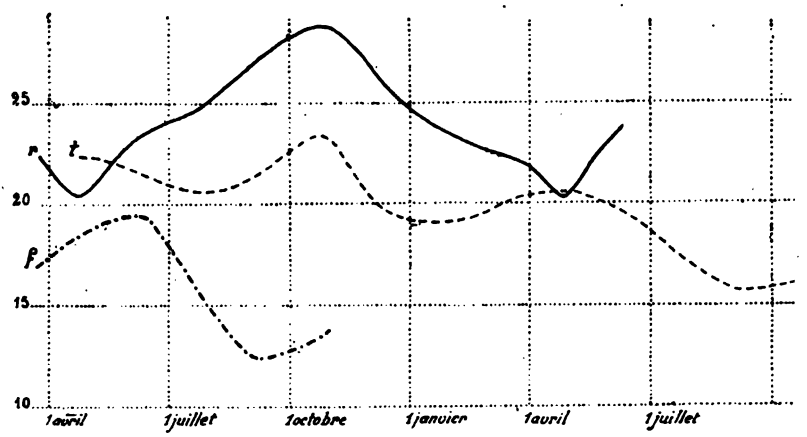


Fig. 53. — Courbes représentant les variations des hydrates de carbone, dans le Framboisier ; *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

Le tableau 16 et l'une des courbes de la figure 53 indiquent la marche des variations des réserves dans une tige de Framboisier depuis le moment où cette tige sort de la terre, en avril, jusqu'au moment où elle meurt en octobre de l'année suivante. La somme des réserves diminue d'abord, passe par un minimum en juillet, puis augmente, passe sur un maximum en octobre, puis diminue pendant l'hiver, augmente de nouveau à la reprise de la végétation, passe vers le mois d'avril par un maximum inférieur au premier, et enfin, après la floraison, diminue jusqu'à la mort de la tige.

Il est facile d'interpréter ces résultats en les comparant à ceux plus simples obtenus avec les tiges des arbres ordinaires. Au mois d'avril de la première année, la proportion des réserves est relativement forte à cause de la migration des réserves de la racine vers la tige. Le fait de cette migration est confirmé par une diminution rapide des réserves de la racine et aussi par la nature des hydrates de carbone qui se trouvent dans la tige. La proportion de sucre, 9 %, est en effet très considérable et l'on sait que le sucre est la forme sous laquelle les hydrates de carbone se déplacent le plus facilement. En juin et juillet, la proportion de réserve diminue parce que les matériaux fournis par les racines, aussi bien que les aliments produits par l'assimilation des feuilles, sont employées pour la formation rapide des nouveaux tissus ; puis pendant l'été, l'assimilation augmentant et la croissance se ralentissant, les réserves augmen-

Digitized by Google

tent et passent par un maximum en octobre, et en cela le Framboisier se conduit comme les arbres à feuilles caduques ; comme chez ces arbres aussi, et même d'une façon plus sensible, les réserves diminuent pendant l'hiver. Le maximum, peu élevé d'ailleurs, qu'on observe au commencement du second printemps, correspond à une seconde migration des réserves de la racine vers la tige; puis toutes les réserves utilisables de la tige sont consommées soit pour la formation des fruits, soit par la respiration. Pendant la seconde saison de vie active de la tige, il semble que l'assimilation par les feuilles soit très faible. Les feuilles portées par les rameaux secondaires sont en effet beaucoup plus petites et en général moins vertes que celles portées par les jeunes pousses directement insérées sur les parties souterraines Quoi qu'il en soit, pendant le second été les réserves diminuent et la tige finit par mourir.

III. Réserves hydrocarbonées des feuilles.

Il résulte de ce qui précède que les tiges et surtout les racines peuvent, dans une certaine mesure, être considérées comme des organes de réserve hydrocarbonée ; il est peu vraisemblable qu'il en soit de même de la feuille qui est essentiellement un organe d'assimilation ; j'ai néanmoins fait les mêmes dosages sur les feuilles que sur les racines et sur les tiges, pour voir comment les sucres et les matières amylacées variaient suivant les saisons. Pour éviter les variations qui pourraient être dues à l'heure de la journée, la récolte a toujours été faite vers le milieu de la journée, et la dessiccation a été commencée aussitôt après que les plantes ont été rapportées au laboratoire et pesées.

Comme pour les racines et les tiges, les analyses ont été faites avec environ 3 grammes de matière. Les tableaux 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 indiquent la proportion de réserves hydrocarbonées renfermées aux diverses époques de l'année dans les feuilles des arbres dont les racines et les tiges ont déjà été étudiées. Sur les figures 47 à 51 et 53, se trouvent des courbes qui représentent la variation de ces réserves respectivement pour chaque espèce étudiée. On remarque d'abord que presque toujours il y a moins de réserves hydrocarbonées dans la feuille que dans la tige ou la racine ; la

Digitized by Google

Tableau 17 (Châtaignier) (1)

	Poids de la substance étudiée	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles
20 mai . . .	3.008	0.135	0.056	0 318
20 juin . . .	3.521	0.077	0.057	0 331
27 juillet . .	3.506	0.098	0.086	0.269
12 septembre.	3.506	0.081	0.067	0.410
19 octobre. .	3.511	0.120	0.058	0.253

Tableau 18 (Châtaignier)

	Sucres	Matières amylacées solubles	Matières amylacées insolubles	Total
20 mai . . .	4.4	1.8	10.5	16.7
22 juin . . .	2.1	1.6	9.4	13.1
27 juillet . .	2.7	2.4	7.6	12.7
12 septembre.	2.3	1.9	10.6	14.8
19 octobre. .	3.4	1.6	7.2	12.2
Tableau 19 (Poirier)				
9 mai . . .	6.1	5.6	7.8	19.5
17 juin . . .	5.1	6.1	8.5	19.7
22 juillet . .	5.5	5.4	9.2	20.1
7 septembre.	6.5	5.6	10.6	22.7
16 octobre. .	7.1	4.8	9.6	21.5
Tableau 20 (Cognassier)				
9 mai . . .	1.1	2.2	9.7	13.0
17 juin . . .	1.2	2.3	10.3	13.8
22 juillet . .	0.9	1.7	7.9	10.5
7 septembre.	1.2	1.9	7.2	10.3
16 octobre. .	1.6	2 2	7.6	11.4
Tableau 21 (Pêcher)				
1 mai . . .	2.8	5.0	8.3	16.1
12 juin . . .	6.1	5.6	12.0	23.7
18 juillet . .	4.8	5.0	9.1	18.9
3 septembre.	3.4	3.4	7.6	14.4
12 octobre. .	2.8	3.7	7.1	13 6
Tableau 22 (Saule)				
20 mai . . .	3.6	4.6	9.8	18.0
22 juin . . .	3.1	4.3	8.3	15.7
26 juillet . .	4.1	4.1	7.9	16.1
12 septembre.	5.5	4.0	9.6	19.1
19 octobre. .	4.7	3.8	6.9	15.4
Tableau 23 (Framboisier)				
20 mars . .	4.2	4.5	8 2	16.9
24 avril . .	5.4	4 8	8.5	18.7
9 juin . . .	5.4	4.5	9 3	19 2
25 juillet . .	3.5	4.2	7.5	15.2
6 septembre.	2.2	3.0	7.2	12.4
25 octobre. .	4.0	3.2	6.4	13.6
15 décembre .	4.2	3.9	7.0	15.1

(1) Dans le tableau 17 le gramme est pris pour unité ; dans les tableaux 18 à 23 les poids sont rapportés à 100 parties de substance étudiée.

Digitized by Google

différence porte surtout sur les matières amylacées insolubles ; ce résultat était facile à prévoir, car on ne trouve jamais dans les feuilles une accumulation d'amidon comparable à celle qui se produit en été et en automne dans la plupart des tiges et des racines ; d'autre part, il n'y a pas, dans les feuilles, de parenchyme dont les parois très épaisses puissent renfermer des quantités considérables de cellulose de réserve.

La proportion de sucre est au contraire, presque dans tous les cas, plus grande dans la feuille que dans tige ou la racine ; ceci est encore tout naturel, le glucose étant un des premiers produits de l'assimilation chlorophyllienne, et surtout étant la forme sous laquelle les hydrates de carbone formés dans la feuille passent dans la tige.

Le sens dans lequel les réserves varient dans la feuille est loin d'être aussi constant que dans la tige ou la racine. Dans le Pêcher et le Coignassier, il y a un maximum au commencement de l'été ; dans le Châtaignier, le Poirier et le Saule, le maximum au contraire est à la fin de l'été. On conçoit que la quantité plus ou moins forte de réserves qui se trouve dans la feuille dépend de l'intensité de l'assimilation et de la vitesse avec laquelle les composés formés passent dans la tige. D'après ce que l'on sait, on peut admettre que l'assimilation passe sur un maximum lorsque les feuilles arrivent à l'état adulte ; mais la migration des matières formées dans la feuille peut s'effectuer vers la tige avec une vitesse variable, de sorte que l'époque où l'assimilation est la plus intense n'est pas forcément celle où il y a le plus de réserves dans la feuille.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Meves (1), à propos d'animaux où il existe deux sortes de spermies, l'une normale, l'autre plus vermiforme et ne contenant qu'une faible partie de la substance nucléaire (Paludine) ou même aucune substance nucléaire (*Pygaera*), émet l'opinion que les centrosomes pourraient bien être présents partout chez les végétaux supérieurs, mais se trouver dans le même état que ceux des spermatocytes de deuxième ordre de la Paludine.

Division directe du noyau. Divisions irrégulières. — Nathansohn (2) provoque l'amitose chez *Spirogyra* et *Closterium* en les soumettant à l'action de l'éther. Il se produit une constriction du nucléole, bientôt suivie d'une constriction du noyau. On n'observe jamais de formes de transition entre la karyokinèse et l'amitose. Les cellules issues de la division directe sont normales et capables de se multiplier caryokinétiquement. Mêmes faits dans les poils staminaux de *Tradescantia virginica*. Dans les boutures de *Populus* et les cotylédons de *Phaseolus*, mitoses et amitoses se montrent côte à côte. Par contre les racines de *Phaseolus* et de *Lupinus* ne présentent pas de divisions directes.

Pfeffer (3) discute les résultats obtenus par Nathansohn et les rapproche des cas normaux de division directe (*Chara*, *Tradescantia*). Il conclut que l'amitose peut exister aussi bien dans les tissus jeunes que dans les tissus âgés, qu'il n'existe aucune règle applicable à l'ensemble des organismes. Pfeffer pense que l'amitose existe normalement chez *Spirogyra* et que cette Algue peut se maintenir indéfiniment par ce mode de division. Nous ne sommes pas autorisés à regarder les processus karyokinétiques comme les plus importants et les seuls porteurs de l'hérédité.

Wasielewski (4) effectue des expériences sur le sommet de la

(1) Meves : *Ueber oligopyrene und apyrene Spermien* etc. (Arch. mikr. Anat. u. Entw., t. 61, 1902).

(2) Nathansohn : *Physiologische Untersuchungen über amitotische Kerntheilung* (Jahrb. wiss. Bot., t. 35, 1900).

(3) Pfeffer : *Ueber die Erzeugung und die physiologische Bedeutung der Amitose* (Ber. Sachsischen Ges. Wiss., Leipzig, 1899).

(4) Wasielewski : *Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kentniss der Amitose* (Jahrb. wiss. Bot., t. 38, 1902).

Digitized by Google

racine de la Fève. La division nucléaire directe et la division cellulaire sont possibles chez les plantes supérieures. L'amitose peut être provoquée par des facteurs divers, mais surtout par l'hydrate de chloral. Le noyau est avant tout propre à une division indirecte renouvelée. Mais les cellules provenant d'amitose sont capables de divisions ultérieures et de développement; il n'y a pas là de dégénérescence. L'amitose se passe le plus souvent comme chez *Chara* et *Tradescantia*: étranglement du nucléole, puis étranglement du noyau. C'est ce que l'auteur appelle *diatmèse* (en latin *dissection*). Il y a un deuxième mode d'amitose, la *diaspase* (en latin *distraction*): le nucléole se coupe d'abord en deux, puis la substance nucléaire s'accumule en deux points opposés et le noyau prend la forme d'un haltère dont la partie moyenne finit par se rompre (observé chez *Saccharomyces* par Müller et par Buscalioni, etc.).

Blazek (1) fait agir des vapeurs de benzol sur l'extrémité de la racine de *Pisum sativum* et observe de nombreuses divisions irrégulières. Les chromosomes ne se portent pas tous aux pôles ; quelques-uns restent à l'équateur ou se groupent en anneaux, demi-anneaux ou autres figures anormales. Chaque chromosome est susceptible de devenir un noyau. On voit souvent des figures polycentriques donnant simultanément plusieurs noyaux (jusqu'à 5). Les cellules plurinucléées deviennent uninucléées par fusion des noyaux. Le cloisonnement cellulaire peut être simultané.

Strasburger avait remarqué, dans la division des cellules-mères du pollen chez *Hemerocallis fulva*, qu'un chromosome se sépare des autres et évolue à part de façon à donner naissance à un très petit grain de pollen. Juel (2) confirme le fait. Le chromosome resté à l'équateur s'éloigne de la figure caryokinétique ; à l'anaphase, il se montre relié aux deux noyaux-frères par des fils achromatiques. La plaque cellulaire se bifurque en Y et l'isole dans une cellule spéciale dont le noyau ne possède qu'un unique chromosome. Ce noyau peut se diviser caryokinétiquement avec scission longitudinale de son chromosome; la deuxième mitose s'annonce par les mêmes caractères, mais la scission en long ne se produit pas. Il arrive souvent que deux chromosomes, au lieu d'un seul, s'isolent ainsi, formant deux petites cellules.

Buscalioni (3) a constaté la formation de petits noyaux à un chromosome dans le développement des graines. Il se produit des divisions hypo- et hyperchromatiques, des divisions tripolaires. Souvent un noyau commence à se diviser par amitose et termine son dédoublement

(1) Blazek : en tchèque dans Abh. bohmish. Ak. Prag, 1902, résumé par Nemec dans Bot. Centralbl. t. 90, 1902.

(2) Juel : *Die Kerntheilungen in den Pollenmutterzellen von Hemerocallis fulva* (Jahrb. wiss. Bot., t. 30, 1897).

(3) Buscalioni : *Osservationi e ricercha sulla cellula vegetale* (Ann. R. Ist. bot. Roma, 1898).

Digitized by Google

par mitose (*fragmentation caryokinétique* de l'auteur). Aussitôt après la maturation des graines chez *Fritillaria* et *Leucoium*, il y a formation de noyaux annulaires et de noyaux géants, c'est pour l'auteur un signe de sénescence. Buscalioni a vu également des fragmentations caryokinétiques dans les jeunes laticifères d'*Urtica* et des amitoses dans les mêmes éléments âgés. Les laticifères d'*Euphorbia* montrent au contraire de vraies caryokinèses.

D'après Pirotta et Buscalioni (1), dans les cellules qui se transforment en vaisseaux chez plusieurs espèces de *Dioscorea*, les divisions répétées du noyau d'abord unique (il y a jusqu'à 100 noyaux dans la cellule allongée) se font remarquer par de nombreuses irrégularités. Des chromosomes sont en retard dans la division, il en résulte des amas de bâtonnets chromatiques. Des noyaux vésiculeux possédant plusieurs nucléoles se scindent par étranglement. D'autres affectent la forme de demi-lunes avec amas variés de chromatine munis souvent d'un prolongement autour duquel est le nucléole. A la fin se produit la dégénérescence ; il ne reste que des corps plus ou moins colorables. Ces phénomènes s'observent dans les vaisseaux de toutes les parties de la plante. Dans les vaisseaux de *Tamus*, les fragmentations nucléaires sont encore plus nombreuses. La division du nucléole précède celle du noyau dont chaque fragment emporte son nucléole. La masse chromatique prend l'aspect moniliforme à la suite d'étranglements.

Tichomirov (2) décrit des divisions directes dans l'épiderme foliaire de *Scorzonera hispanica*. Dans le tube politique d'*Hemerocallis*, Fulmer (l. c.) trouve jusqu'à 6 et 8 noyaux provenant par amitose du noyau végétatif.

Durant la formation de l'albumen de *Corydalis cava* (Tischler, 3), les divisions irrégulières avec nombre de chromosomes variable sont fréquentes. Chaque cellule a constamment plusieurs noyaux et ceux-ci se fusionnent en un gros noyau, dont les nucléoles restent séparés ou s'unissent. Les divisions ultérieures de ces noyaux fusionnés s'effectuent suivant la pseudo-amitose de Häcker.

Des fusions nucléaires existent également dans l'albumen de *Zostera marina*, mais elles se produisent entre les noyaux libres et seulement çà et là (Rosenberg, 4). Plus tard il y a régression du contenu chromatique et les nucléoles se montrent longs et filamenteux.

(1) Pirotta e Buscalioni : *Sulla prezenza di elementi multinucleati nelle Dioscoreacee* (Ann. R. Ist. bot. Roma, 1898).

(2) Tichomirov : *Die Amitose in den epidermischen Zellen von Scorzonera hispanica L.* (Bot. Centralbl., t. 77, 1900).

(3) Tischler : *Untersuchungen über die Entwicklung des Endosperms und der Samenschale von Corydalis cava* (Verhandl. Naturf. mediz. Vereins, t. 6, 1900).

(4) Rosenberg : *Ueber die Embryologie von Zostera marina* (Svenska Vet. Ak. Handlingar, t. 27, 1901).

Digitized by Google

Nemec (1) obtient sous l'action du sulfate de cuivre étendu à 1 pour cent des cellules binucléées dans la racine de la Fève. Il y a souvent fusion des deux noyaux.

Chez *Tricyrtis hirta* (Ikeda, l. c.), les noyaux, pendant le développement de l'albumen, prennent des formes rappelant la division amitotique, mais il y a caryokinèse. Le protoplasme remplit ici le sac embryonnaire, au lieu de former simplement une couche pariétale.

(1) Nemec : *Ueber ungeschlechtliche Kernverschmelzungen* (Sitz. K. böhm. Ges. Wiss., 1902).

(*A suivre*). H. Ricôme.

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

UN CAS DE STAMINODIE DU PISTIL

CHEZ *LONICERA PERICLYMENUM* L.

par Aug. DAGUILLON.

On sait combien sont fréquentes les anomalies florales chez les Chèvrefeuilles. Ayant eu l'occasion d'observer, il y a quelques années, le long d'une haie exposée au nord, à Songeons (Oise), un pied sauvage de *Lonicera Periclymenum* L. dont toutes les fleurs offraient manifestement une augmentation anormale du nombre des anthères, lesquelles étaient visibles en dehors de la corolle, j'avais mis de côté, dans l'alcool, un certain nombre de ces fleurs. Après les y avoir longtemps oubliés, j'ai retrouvé récemment ces échantillons, et l'étude m'en a paru assez intéressante.

En examinant de près ces fleurs anormales, il était facile de s'assurer qu'à la multiplication des organes mâles correspondait une atrophie au moins partielle des organes femelles : l'ovaire infère d'une fleur normale de Chèvrefeuille est nettement renflé vers son milieu, de manière à présenter une forme ovoïde ; l'organe qui en occupait la situation dans les fleurs anormales était beaucoup plus grêle dans son ensemble, s'élargissant faiblement de bas en haut, depuis l'extrémité du pédicelle floral jusqu'à la naissance du calice.

Pour mieux comprendre, dans leur ensemble, les altérations subies par ces fleurs, il n'est pas mauvais de se rappeler l'organisation des fleurs normales.

On sait qu'une fleur de *Lonicera Periclymenum* est normalement hermaphrodite, pentamère dans ses verticilles externes, avec pistil trimère, et nettement zygomorphe. Le calice comprend cinq sépales à peu près également développés, dont un postérieur ; ces sépales sont concrescents entre eux dans leurs parties inférieures. La

Digitized by Google

corolle est formée de cinq pétales concrescents, alternes avec les pétales ; leurs parties inférieures constituent un long tube à la base duquel on observe, sur la face antérieure, un renflement en forme de bosse ; ce tube est surmonté de deux lèvres, l'une antérieure, formée par le pétale antérieur seul, l'autre postérieure, formée par les quatre autres pétales, et offrant sur son bord libre trois échancrures qui séparent les lobes correspondant à ces quatre pétales. L'androcée comprend cinq étamines, alternes avec les pétales, concrescentes avec la corolle dans une grande partie de leur longueur ; leurs filets, libres au-dessus du niveau de la gorge de la corolle, se continuent sur toute la longueur du tube sous la forme de cinq nervures saillantes à sa face interne.

L'ovaire est infère ; il est creusé intérieurement de trois loges ; dans leurs parties inférieures, ces loges sont nettement séparées par trois cloisons convergeant vers l'axe ; elles correspondent à autant de carpelles dont un est antérieur. Chacune d'elles est occupée par deux rangées d'ovules, insérées le long des renflements placentaires que portent, au voisinage de l'axe, les cloisons de l'ovaire. Ces cloisons, qui, dans la région inférieure de l'ovaire, atteignent l'axe, de manière à se souder les unes aux autres et à isoler complètement les loges, sont moins complètes dans sa région supérieure et laissent s'établir des communications entre les loges, de manière que l'ovaire tend à devenir uniloculaire. Du sommet de l'ovaire, au fond de la corolle, se détache un style unique, long et grêle, qui vient porter le stigmate au milieu des anthères. A la base du style et sur sa face antérieure, on observe un bourrelet parenchymateux, entourant incomplètement le style à la manière d'un croissant : c'est une sorte de disque nectarifère.

Dans les fleurs anormales le calice et la corolle n'offraient pas d'altérations notables. On y observait encore cinq étamines normales (E), se détachant de la face interne de la corolle au niveau de la gorge et terminées par des anthères A. Mais on voyait, de plus, s'insérer au fond de la corolle une ou plusieurs formations anormales qui, d'autre part, se terminaient par des anthères supplémentaires, situées à la hauteur de la gorge. Le nombre et la disposition de ces formations anormales variaient assez sensiblement d'une fleur à l'autre. Voici, par exemple, dans un cas simple (fig. 54), l'aspect que présentait la formation unique : c'était, dans sa partie

Digitized by Google

inférieure, une sorte de cylindre creux (T), concentrique au tube de la corolle ; à peu près vers le milieu de la hauteur de ce dernier, ce cylindre s'ouvrait le long d'une de ses génératrices, de manière à se transformer en une sorte de languette dont le bord libre portait trois anthères (A'), normales par leurs dimensions et leur structure. Au premier abord on aurait pu être tenté de comparer cette formation à une corolle supplémentaire dont les pétales concrescents auraient porté des anthères à leur sommet. Dans d'autres fleurs, à l'intérieur d'une première pièce, semblable à la précédente, en était incluse une seconde, à peu près de même nature, mais de dimensions plus réduites et ne portant qu'une ou deux anthères, petites et mal développées. On pouvait même observer parfois une troisième pièce, plus réduite encore, incluse à son tour dans la seconde. Ces diverses pièces incluses les unes dans les autres pouvaient, au lieu de rester tubuleuses, être divisées en lanières distinctes ; fréquemment aussi, elles contractaient des adhérences entre elles, au moins dans leurs parties inférieures. Le nombre des anthères supplémentaires qu'elles supportaient n'avait rien de fixe ; j'ai cependant remarqué que la pièce la plus externe et la plus développée, qui souvent existait seule, portait communément trois anthères. — Nulle trace de style ni de stigmate, pas plus que de disque nectarifère. — Quant à l'ovaire, on a vu plus haut qu'il était beaucoup moins gros que celui d'une fleur normale. L'étude de son organisation ne pouvait être faite utilement qu'à l'aide d'une série de coupes transversales. Cette étude devait permettre en même temps de

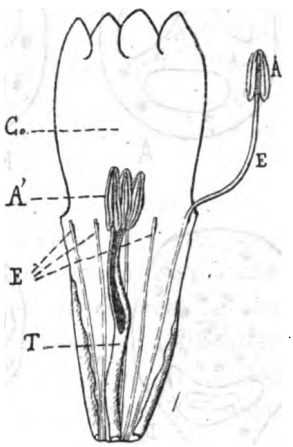


Fig. 54. — Corolle anormale de *Lonicera Periclymenum*, ouverte longitudinalement (la lèvre antérieure a été détachée et le tube de la corolle fendu dans le prolongement du plan de symétrie de cette lèvre).

Co., lèvre postérieure de la corolle ; *E*, étamines normales (une seule est entière avec son anthère *A* ; les autres ont été coupées vers la base de la partie libre du filet) ; *T*, formation anormale, surmontée d'anthères supplémentaires *A'*.

Digitized by Google

suivre la marche des faisceaux libéro-ligneux qui se distribuaient aux diverses parties de la fleur altérée.

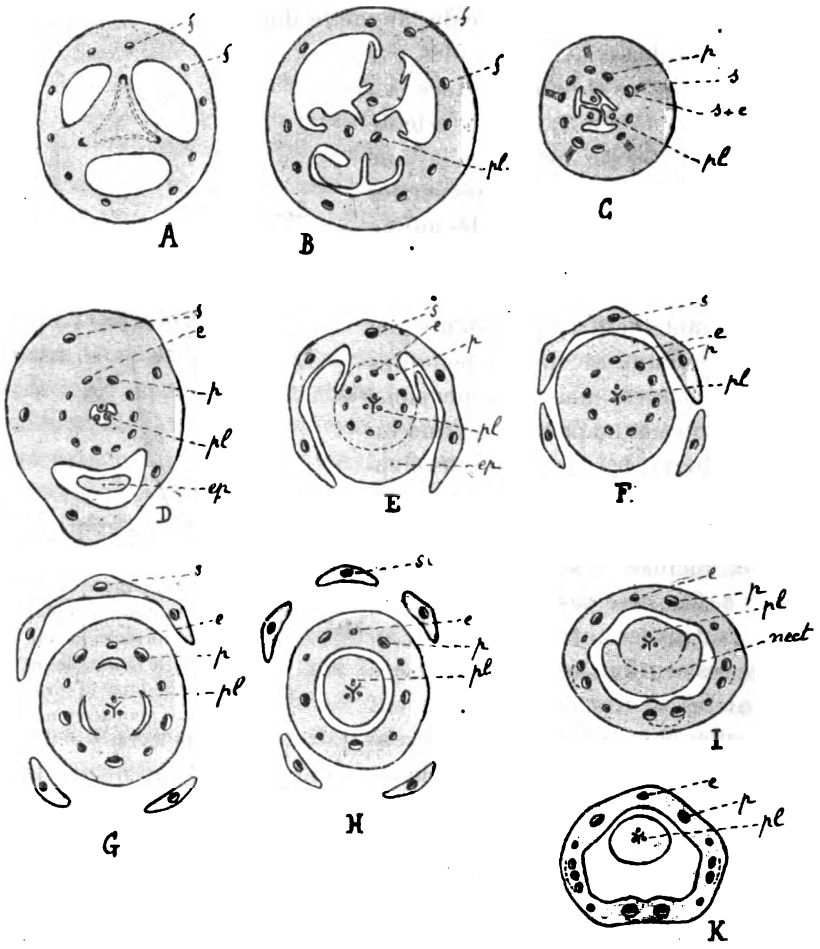


Fig. 55. — Série de coupes transversales demi-schématiques dans une fleur normale de *Lonicera Periclymenum*. — *f*, faisceaux pariétaux; *pl*, faisceaux placentaires; *s*, faisceaux sépalaires; *e*, faisceaux staminaux; *p*, faisceaux pétalaires; *ep*, éperon parenchymateux de la corolle; *nect*, disque nectarifère.

La marche des faisceaux libéro-ligneux dans la fleur normale a été étudiée et décrite avec soin par L. Vidal (1). Nous allons la

(1) L. Vidal : Recherches sur le sommet de l'axe dans la fleur des Gamopétales. Grenoble, 1900.

Digitized by Google

résumer ici en la simplifiant un peu et en nous aidant de quelques croquis (fig. 55).

Vers la base de l'ovaire infère, immédiatement au-dessus du pédicelle, on observe, sur une circonférence concentrique à la surface générale de l'organe, de six à huit faisceaux libéro-ligneux, à peu près équivalents.

Bientôt se détachent de ces faisceaux, vers l'intérieur de l'ovaire, des rameaux qui vont constituer autour de l'axe trois faisceaux placentaires (*pl*) à orientation inverse de la normale (bois vers l'extérieur, liber vers l'intérieur), en même temps que se creusent les trois loges de l'ovaire.

Plus haut, et en même temps que ces loges, agrandies, se garnissent d'ovules, les six à huit faisceaux pariétaux (*f*) se multiplient jusqu'à atteindre le nombre de dix. Ce nombre se maintient ensuite dans toute la longueur de l'ovaire, dont les loges se rétrécissent vers la partie supérieure, en même temps que disparaissent les ovules; remarquons d'ailleurs, avec Vidal, que, si ces loges sont complètement séparées dans la région inférieure de l'ovaire, où cet auteur admet l'existence d'un prolongement très raccourci de l'axe, elles ne tardent pas à communiquer les unes avec les autres, d'abord par d'étroites fentes qui s'insinuent entre les placentas, puis de plus en plus largement. Mais on retrouve toujours, dans leur situation normale, les trois faisceaux placentaires (*pl.*).

Vers l'extrémité supérieure et rétrécie de l'ovaire infère, on voit (C), de deux en deux, cinq des dix faisceaux pariétaux se ramifier suivant le sens radial : les rameaux émis vers l'extérieur ne sont autre chose que les faisceaux (*s*) destinés aux cinq sépales, ou faisceaux sépalaires. Ce qui reste des faisceaux ainsi ramifiés constitue les cinq faisceaux destinés aux étamines ou faisceaux staminaux (*e*). Entre eux s'intercalent régulièrement les cinq faisceaux qui sont demeurés simples : ils sont destinés à la corolle ; ce sont les faisceaux pétalaires (*p*).

Un peu plus loin (D), la coupe transversale présente, du côté antérieur, une assez forte saillie, qui lui imprime une symétrie bilatérale plus ou moins nette. A cette saillie extérieure correspond une cavité interne, de section grossièrement triangulaire, terminée en doigt de gant vers son extrémité inférieure et occupée

Digitized by Google

par une sorte d'éperon parenchymateux (*ep*). Cette cavité laisse vers l'extérieur de la coupe les faisceaux sépalaires (*s*) : l'éperon qu'elle abrite n'est pas autre chose que l'extrémité de la bosse que porte la base de la corolle.

A un niveau un peu plus élevé (E) on voit cette sorte de fente triangulaire s'ouvrir sur sa face antérieure, tandis qu'elle s'étend sur ses bords latéraux en se rapprochant peu à peu de la face postérieure ; l'éperon parenchymateux suit ce mouvement, en même temps qu'il vient se souder à la masse centrale, dans laquelle se confondent encore la corolle, l'androcée et le gynécée. Enfin (F) la fente intrasépalaire fait le tour complet de la figure et laisse entièrement en dehors le calice, dont les deux sépales antérieurs sont déjà entièrement libres (les trois postérieurs étant encore concrescents en une lame commune), tandis que le bourrelet parenchymateux se referme sur la masse centrale du côté de sa face postérieure. Cependant la cavité ovarienne, de plus en plus réduite, n'est plus représentée, sur la coupe transversale, que par une sorte d'étoile à trois branches, entre les rayons de laquelle s'observent toujours les trois faisceaux placentaires (*pl*).

Plus haut encore (G), on voit s'accuser entre les dix faisceaux de la masse centrale une inégalité qu'on pouvait déjà soupçonner au niveau précédent : les faisceaux staminaux, opposés aux sépales, restent grêles, tandis que les faisceaux pétalaires, qui alternent avec eux, prennent un développement sensiblement plus considérable et tendent à s'étaler dans le sens tangentiel. En même temps, de distance en distance, apparaissent des fentes, au nombre de trois par exemple, qui laissent vers l'exterieur tout le cercle des faisceaux. Ces fentes s'élargissent peu à peu, de manière à se confondre latéralement les unes avec les autres en une gouttière continue, et bientôt (H) la corolle se trouve entièrement détachée de la base du style : elle contient à la fois les faisceaux pétalaires (*p*) et les faisceaux staminaux (*e*).

C'est un peu plus haut (I) que la corolle, dont la section offrait d'abord une forme presque régulièrement circulaire, s'aplatit dans le sens dorsiventral de manière à prendre une symétrie nettement bilatérale : sa section offre alors un peu la forme d'un pentagone à angles émoussés. Les faisceaux staminaux (*e*) y sont restés simples et grêles : ils se poursuivent, d'ailleurs, tels quels jusque dans les

Digitized by Google

étamines. Parmi les faisceaux pétalaires (*p*), au contraire, ceux qui correspondent aux trois pétales antérieurs se sont bifurqués dans le sens tangentiel, portant à treize le nombre total des faisceaux de la corolle. En même temps, on voit se dessiner, sur la face interne de celle-ci, deux bourrelets longitudinaux et parallèles, correspondant aux faisceaux du pétale antérieur. C'est aussi à cette hauteur que se manifeste sur les coupes le disque nectarifère (*nect*), formant une sorte de croissant entièrement parenchymateux, adhérent à la face antérieure du style.

Un peu au-dessus du niveau occupé par le disque nectarifère (K), la surface des deux bourrelets signalés ci-dessus se couvre de papilles épidermiques qui lui donnent un aspect tomenteux. Bientôt le style réduit sensiblement son diamètre, en même temps que, dans la corolle, les faisceaux pétalaires se multiplient par ramification. Plus haut encore, se forment à la face interne de la corolle cinq bourrelets correspondant aux faisceaux staminaux ; au niveau de la gorge de la corolle ces bourrelets se détachent, en entraînant chacun son faisceau, pour constituer les parties libres des étamines.

En somme, quand on suit de bas en haut la marche des faisceaux libéro-ligneux qui se distribuent aux diverses pièces de l'appareil floral, on voit se détacher de bonne heure les faisceaux placentaires, et, comme le fait remarquer Vidal, en dehors de ces faisceaux, le système libéro-ligneux propre des carpelles est absolument insignifiant : il consiste en un grand nombre de fascicules qui se détachent des faisceaux pétalaires et staminaux au niveau (F,G) où ceux-ci vont être entraînés par les pièces florales externes, se séparant du gynécée, fascicules qui viennent mourir dans le « toit » de l'ovaire, sans pénétrer dans le style : ils n'ont même pas été figurés dans nos dessins schématiques.

Voyons maintenant quelle était la marche des faisceaux dans une de nos fleurs anormales.

Une coupe transversale, faite vers l'extrémité inférieure de l'organe qui occupe la situation de l'ovaire, montre un nombre variable de faisceaux, qui paraît souvent un peu supérieur à celui que l'on observe dans une fleur normale. Bientôt le nombre et la disposition de ces faisceaux (*f*) se régularisent, et, en même temps qu'ils se distribuent, au nombre de dix, sensiblement égaux,

Digitized by Google

sur une circonférence concentrique à la surface de l'organe, on voit paraître, dans l'axe de ce dernier, une cavité dont la section transversale a, par exemple, la forme d'une boutonnière (fig. 56, A).

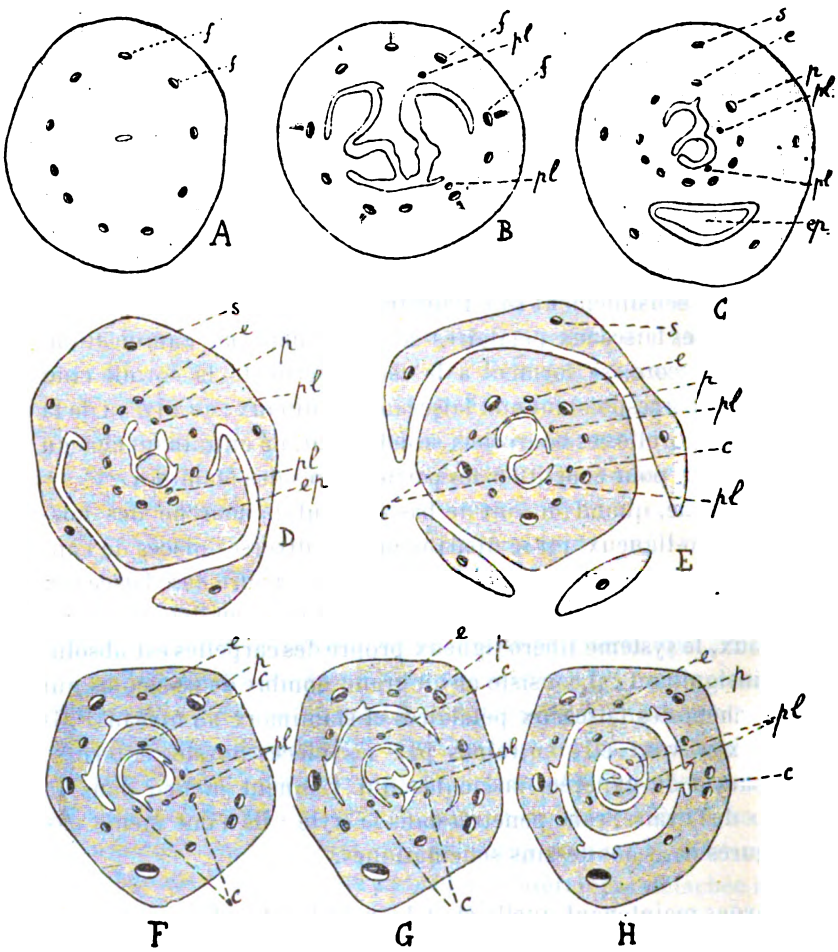


Fig. 56. — Série de coupes transversales demi-schématiques dans une fleur anormale de *Lonicera Periclymenum*. — *f*, faisceaux pariétaux ; *pl*, faisceaux placentaires ; *s*, faisceaux sépalaires ; *e*, faisceaux staminaux ; *p*, faisceaux pétalaires ; *c*, faisceaux carpellaires ; *ep*, éperon parenchymateux de la corolle.

Cette cavité ne tarde pas à s'agrandir (B). En même temps, le contour de sa section prend une forme irrégulière : sur sa face

Digitized by Google

interne se développent un certain nombre de saillies formées d'un parenchyme compact, homogène, à cellules assez petites, avec de gros noyaux. En même temps aussi, les dix faisceaux signalés plus haut émettent vers l'intérieur des ramuscules assez irréguliers qui viennent constituer, dans le voisinage des saillies parenchymateuses, des faisceaux à orientation normale (bois interne, liber externe), assez irrégulièrement espacés (*pl*). Les premières saillies parenchymateuses s'insèrent souvent sur les parois de la cavité par une portion légèrement rétrécie, parfois presque pédiculée, et leur forme peut être grossièrement ovoïde, rappelant celle d'un ovule; mais il m'a été impossible d'y reconnaître quoi que ce soit de comparable soit à un tégument, soit à un sac embryonnaire : ce seraient des ovules réduits à un nucelle absolument stérile. Les saillies suivantes s'étendent ordinairement sur une longueur plus grande, formant des sortes de bourrelets longitudinaux.—Toutes ces particularités de structure s'interprètent assez aisément en admettant qu'on ait ici affaire à un ovaire infère, comme l'ovaire normal, mais dont les carpelles, au lieu de se fermer dans leurs régions inférieures, y resteraient ouverts et simplement concrescents entre eux bord à bord, ce qui suffirait à expliquer l'orientation normale des faisceaux placentaires (*pl*) ; de plus, les ovules portés par ces carpelles demeureraient stériles, à l'état de lobes ou de bourrelets parenchymateux.

De bonne heure, je veux dire à un niveau assez bas, on voit, de deux en deux, cinq des dix faisceaux pariétaux émettre vers l'extérieur les faisceaux destinés aux sépales.

On atteint sans modification sensible (C) l'extrémité supérieure de l'ovaire, au niveau de laquelle paraît la cavité qui abrite l'éperon parenchymateux (*ep*) de la corolle. Tandis qu'à ce niveau, dans une fleur normale, la cavité ovarienne est tout à fait rétrécie et ne contient plus aucun ovule (voir fig. 55, D), ici elle a conservé des dimensions très appréciables et contient encore les bourrelets parenchymateux homologues des ovules.

Voici maintenant (D) le niveau auquel la poche protectrice de l'éperon s'ouvre sur sa face antérieure, en même temps que l'éperon se raccorde à la corolle et que s'ébauche la séparation du calice. Tandis qu'à ce niveau dans la fleur normale (voir fig. 55, E) la cavité de l'ovaire n'est plus qu'une cavité virtuelle, ici, au contraire, elle

Digitized by Google

est encore largement ouverte et contient des bourrelets ou lobes parenchymateux dont les portions orientées parallèlement à l'axe de la fleur peuvent se détacher complètement sur la coupe transversale.

C'est encore ce qu'on observe (E) alors que les deux sépales antérieurs se sont nettement séparés du reste du calice, que la corolle a repris sa forme circulaire par suite de l'effacement de sa bosse antérieure et que déjà s'accuse une inégalité entre les gros faisceaux pétalaires (*p*) et les faisceaux plus grêles (*e*) destinés aux étamines. On retrouve toujours la même disposition au-dessus du sommet du calice, alors que la coupe ne rencontre plus les sépales. Dans toute la série de coupes que nous venons de parcourir se retrouvent aussi les faisceaux placentaires (*pl*), suivant un trajet plus ou moins sinueux. Mais en même temps de nouveaux rameaux (*c*), normalement orientés, se sont détachés des faisceaux pétalaires et staminaux dans la direction de l'axe floral, et sont venus s'ajouter aux faisceaux placentaires : en raison de leur origine et du niveau auquel ils prennent naissance, il paraît bien naturel d'homologuer ces rameaux aux fascicules carpellaires de la fleur normale ; mais ils ont un développement bien plus considérable. D'une manière générale ces faisceaux carpellaires se placent à l'extérieur des faisceaux placentaires ; mais cette disposition n'est pas toujours rigoureuse et, comme les faisceaux carpellaires viennent souvent s'intercaler avec une certaine irrégularité entre les faisceaux placentaires, il devient alors malaisé de les distinguer les uns des autres quand on n'a pas suivi patiemment leur course dans une série complète de coupes.

Mais voici (F) qu'en dedans du cercle formé par les faisceaux pétalaires et staminaux, et en dehors de celui des faisceaux carpellaires et placentaires, paraît une première fente, en forme d'arc de cercle, indice d'une cavité dont la face interne est à peu près lisse, tandis que sa face externe, moins unie, porte, par exemple, deux sillons parallèles découpant une sorte de bourrelet saillant qui correspond à un des faisceaux staminaux.

Plus haut (G) la fente s'étend sur ses bords, et au premier bourrelet staminal s'en ajoute un second. En même temps une autre fente apparaît, dans le prolongement de l'arc de cercle formé par la première. L'une et l'autre ne tardent pas à s'étendre de plus en

Digitized by Google

plus, et enfin (H) une gouttière circulaire complète isole la partie centrale de la fleur du tube de la corolle, portant sur sa face interne cinq bourrelets saillants, dont chacun est soutenu par une nervure et correspond à une étamine normale. La dépression comprise entre les deux bourrelets staminaux antérieurs et qui correspond au pétale médian est couverte de papilles épidermiques.

Il peut arriver que la séparation de la corolle se produise d'une façon un peu différente. Une fente initiale, en forme de boutonnière, apparaît en face du pétale antérieur, et se couvre presque immédiatement de papilles épidermiques sur sa face externe. Un peu plus haut, deux fentes semblables, mais nullement papilleuses, apparaissent symétriquement, en face des deux pétales voisins. Puis un dernier groupe de fentes symétriques se forme en face des deux pétales postérieurs, complétant avec les précédentes une figure à cinq côtés, d'une assez grande régularité. Enfin ces fentes se raccordent latéralement en une gouttière continue qui isole la corolle, et la dépression correspondant au pétale antérieur garde son aspect tomenteux. Parfois cette gouttière se complète d'abord sans employer la fente initiale, et ainsi se constitue, en face du pétale antérieur, une sorte de fossette ou de gousset tomenteux qui ne s'ouvre que plus haut à la face interne de la corolle.

Que sont devenus, pendant ce temps, les lobes et bourrelets parenchymateux que contenait la cavité ovarienne ? On en retrouve les prolongements, de plus en plus réduits, dans toute la série des coupes que nous venons de passer en revue. Mais bientôt de la face interne de la cavité ovarienne on voit se détacher de nouveaux bourrelets qui se substituent aux précédents et qui, au lieu de rester entièrement parenchymateux, entraînent avec eux les faisceaux placentaires : en F s'ébauche la formation de deux de ces bourrelets à structure vasculaire ; en G ils font une saillie plus marquée vers l'intérieur de la cavité ovarienne; en H ils sont complètement libres à l'intérieur d'un tube, à l'aspect de corolle, dont la paroi contient l'ensemble des faisceaux carpellaires.

Or, comme on peut s'en assurer aisément, soit en prolongeant la série des coupes transversales, soit par une simple dissection, c'est précisement ce dernier tube qui porte sur son bord libre des anthères, ordinairement au nombre de trois, et forme la plus constante des pièces anormales qu'on remarque au premier abord

Digitized by Google

dans les fleurs en question. Et les pièces de même nature, mais plus réduites et aussi moins constantes, qui sont souvent incluses dans la pièce principale, ne sont pas autre chose que les bourrelets à structure vasculaire dont il vient d'être question.

Ainsi on se trouve amené à proposer pour l'anomalie qui fait l'objet de cette note l'interprétation suivante.

Les trois carpelles constitutifs du pistil sont demeurés, dans leurs parties inférieures, concrescents avec les verticilles externes de la fleur, de manière à simuler un ovaire infère ; mais ces carpelles sont ouverts dans toute leur longueur et ne sont concrescents entre eux que bord à bord, de sorte que leurs faisceaux placentaires orientent leur bois vers l'axe et leur liber en dehors. Dans leurs parties inférieures, correspondant à l'ovaire infère, ils produisent sur leurs bords, au lieu d'ovules fertiles, de simples lobes ou bourrelets parenchymateux. Plus haut, un dernier groupe de lobes marginaux entraîne avec lui les faisceaux placentaires et forme une ou plusieurs languettes qui portent à leurs extrémités des sacs polliniques plus ou moins différenciés. Enfin, se séparant de la corolle à peu près au niveau où, dans une fleur normale, s'en détacherait le style, les carpelles, encore concrescents entre eux, différencient leurs parties terminales en une sorte de tube corolliforme qui entraîne avec lui les faisceaux carpellaires et porte sur son bord libre quelques anthères bien différenciées et ordinairement au nombre de trois.

En résumé, l'anomalie consiste essentiellement en une altération des carpelles : ouverts dans toute leur étendue, ils ne différencient en ovules, d'ailleurs stériles, que leurs lobes marginaux les plus inférieurs, tandis que les lobes marginaux supérieurs, ainsi que l'extrémité libre du carpelle, se différencient en des sortes de languettes pollinifères.

Comme je le rappelais au début de cette note, les anomalies florales sont très fréquentes dans le genre *Lonicera* et ont attiré à bien des reprises l'attention des botanistes. Récemment encore, Guéguen et Heim (1) ont publié d'intéressantes considérations

(1) Guéguen et Heim : Variations florales tératologiques d'origine parasitaire chez le Chèvrefeuille ; étude de l'aphidocécidie florale du *Lonicera Periclymenum* produite par *Rhopalosiphon Xylostei* Schrk. (Association française pour l'avancement des Sciences, 30me session, Ajaccio, 1re partie, p. 130).

Digitized by Google

sur l'influence déterminante que peut exercer le parasitisme sur certaines de ces anomalies. Mais en consultant la *Vegetable teratologie* de Masters, et la *Pflanzenteratologie* de Penzig, je n'ai pas vu que le cas dont je viens de donner la description ait été jusqu'à ce jour signalé ou, du moins, ait reçu la même interprétation.

Penzig (1) cite des variétés de *Lonicera Periclymenum* à fleurs pleines, possédant, par suite de la pétalisation des étamines, deux corolles emboîtées l'une dans l'autre, et chez lesquelles peut se montrer encore une troisième corolle, concentrique aux précédentes, provenant soit de la formation d'un second verticille d'étamines pétaloïdes, soit de la pétalisation des carpelles : même dans ce dernier cas, il ne semble pas qu'il s'agisse tout à fait de l'anomalie que j'ai décrite ici. Masters (2) signale aussi l'existence accidentelle chez *L. Periclymenum* d'un second verticille d'étamines plus ou moins pétaloïdes, et rapporte que le Dr Marchand (*Adansonia, IV*) a cité des exemples de la même espèce dont les ovules étaient transformés en folioles ; mais rien de tout cela ne semble se rapporter exactement à notre observation. D'autre part (3) il rappelle que la staminodie du pistil a été niée par certains auteurs et est en tout cas plus spéciale aux pistils unicarpellés.

Pour toutes ces raisons, j'ai pensé que la publication d'un cas assez clair, à ce qu'il me semble, de staminodie du pistil chez *Lonicera Periclymenum*, ne serait pas absolument inutile.

(1) Penzig : Pflanzenteratologie, Genua, 1894, t. II, p. 32.
(2) Masters : Pflanzenteratologie. (Edition allemande de U. Dammer, p. 433).
(3) Masters, loc. cit., p. 340.

Digitized by Google

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES

SUR LES

MATIÈRES DE RÉSERVES DES ARBRES

par M. LECLERC DU SABLON *(Fin)*.

IV. Azote des racines des tiges et des feuilles.

L'azote est introduit par les racines sous forme de nitrates ou de sels ammoniacaux, puis sert à produire, principalement dans les feuilles, la synthèse de matières organiques azotées. Je n'ai pas cherché à distinguer les différentes sortes de matières azotées. Les dosages, pour lesquels M. Dop, docteur ès-sciences, m'a prêté une aide très utile dont je le remercie, ont été faits par la méthode de la chaux sodée, qui, on le sait, donne l'azote d'une façon globale. La quantité de matière employée pour un dosage était uniformément de 2 grammes pour les tiges et les racines relativement pauvres en azote et de 1 gramme pour la plupart des feuilles.

Châtaignier (tableau 24, fig. 57). — Le tableau 24 indique la quantité d'azote renfermée dans 100 parties de matière sèche de la racine, de la tige et de la feuille ; la figure 8 donne la représentation graphique des variations de l'azote.

Tableau 24

	Racine	Tige	Feuille
11 janvier	1.19	1.06	
26 février	1 10	1.12	
28 mars	1.12	1 05	
20 mai	1.06	0.98	2.38
22 juin	0.70	0.70	1.82
27 juillet	0.70	0.84	1.68
12 septembre	0.73	0.91	1.89
19 octobre	0.98	0 90	1.75
22 novembre	0.98	0.92	
26 décembre	1.19	1.05	

Digitized by Google

Il y a à peu près autant d'azote dans la tige que dans la racine et la marche des variations est à peu près la même dans les deux cas. Pendant l'hiver, la proportion reste à peu près constante, puis diminue notablement au printemps, au moment de la formation des feuilles, passe par un minimum au mois de juin et augmente ensuite jusqu'au mois de janvier.

Pour comprendre la raison d'être de ces variations, il ne faut pas perdre de vue qu'il n'est question ici que de quantités relatives d'azote, c'est-à-dire de la proportion d'azotepar rapport à l'ensemble de la matière sèche. Il peut se faire par conséquent que, la quantité d'azote augmentant d'une façon absolue, la proportion d'azote diminue néanmoins, si les autres substances augmentent plus vite

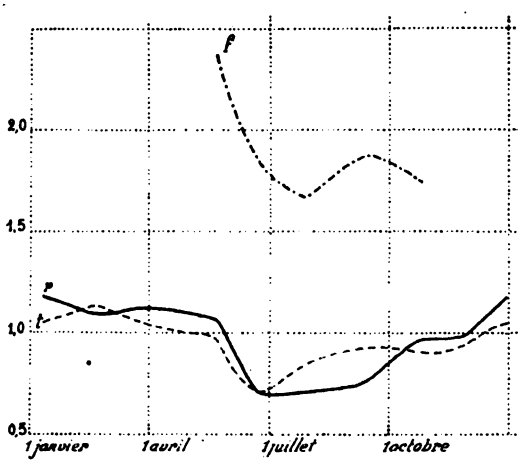


Fig. 57. — Courbes représentant les variations de l'azote dans le Châtaignier ; *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

que l'azote. De plus, l'azote entre dans la plante aussi longtemps que l'absorption a lieu par les racines, et les pertes d'azote se font par la chute des organes caducs tels que les feuilles ; on n'a pas observé d'une façon précise l'élimination de produits azotés de désassimilation gazeux ou solubles. Ceci posé, on voit que pendant l'hiver les variations de l'azote sont faibles ; l'azote et le poids total de la matière sèche ne varient pas ou varient dans le même sens. Au mois de mai, lorsque les feuilles se développent, il y a une brusque diminution de la proportion d'azote dans la tige et la racine, bien qu'à ce moment l'absorption par les racines soit intense.

Digitized by Google

Cela tient à ce qu'il a produit alors une migration d'une grande quantité d'azote vers les feuilles ; on constate en effet que les jeunes feuilles renferment alors une grande proportion d'azote.

A partir du mois de juin ou de juillet, la proportion d'azote augmente ; l'absorption continuant par les racines, la migration vers les feuilles cesse ou du moins se ralentit beaucoup. Dans les feuilles, la proportion d'azote diminue d'une façon générale; les jeunes feuilles s'accroissent en effet rapidement et le poids de leur matière sèche augmente beaucoup pendant que la provision d'azote reçue des racines reste stationnaire ou augmente peu. On sait en effet que le protoplasma est très dense dans les jeunes feuilles, tandis qu'il devient de plus en plus clair en été et en automne. Il y aurait aussi lieu de tenir compte des échanges continuels de matière azotée qui se font entre les divers membres de la plante pendant la saison de vie active, les feuilles recevant par l'intermédiaire des tiges l'azote minéral absorbé par les racines et le transforment en matière organique qui se distribue ensuite dans les différents organes. Après la chute des feuilles, la proportion d'azote continue à augmenter dans la tige et dans la racine jusqu'au mois de janvier ; ce résultat pourrait s'expliquer par la diminution des hydrates de carbone la quantité absolue d'azote restant constante tant qu'il n'y a pas absorption par les racines.

En somme la tige et la racine s'appauvrissent au printemps en azote qui est cédé aux feuilles en voie de formation. Puis pendant l'été et l'automne la provision d'azote se reforme et reste constante ou diminue à peine pendant l'hiver.

Poirier (tableau 25, fig. 58). — La racine, dans cette plante, renferme constamment plus d'azote que la tige, tandis que dans le Châtaignier, il y avait à certaines époques, et notamment en été, un peu plus d'azote dans la tige que dans la racine. Le sens des variations est d'une façon générale le même dans les deux plantes. Au commencement du printemps, avant que les feuilles se soient développées, on remarque, aussi bien dans la tige que dans la racine, une diminution d'azote assez nette. Cette particularité s'explique en supposant qu'à cette époque l'azote commence à émigrer d'une part vers les bourgeons qui se forment sur la tige et d'autre part vers l'extrémité des racines qui vont bientôt produire des radicelles.

Digitized by Google

Or dans les récoltes faites au printemps j'ai supprimé les bourgeons dont l'azote n'a par conséquent pas été compté avec celui de la tige, et d'autre part j'ai constamment négligé les radicelles les plus profondément enfoncées dans le sol.

Tableau 25

	Racine	Tige	Feuille
19 janvier	0.98	0.84	
26 février	0 91	0.77	
28 mars.	0.86	0 77	
9 mai	0.81	0.70	2.31
17 juin	0.75	0.56	1.82
2 juillet	0.79	0.70	1.20
7 septembre	0.82	0 70	1.12
16 octobre	0 88	0.73	1.12
22 novembre	0.93	0.78	
26 décembre	0.98	0.82	

La proportion d'azote diminue donc constamment dans les tiges et les racines, depuis le mois de janvier jusqu'au mois de juin, passe par un minimum pour augmenter jusqu'au mois de janvier où se trouve le maximum. Dans les feuilles, l'azote est relativement très abondant au commencement du printemps, décroît très rapidement et conserve à peu près la même valeur pendant la fin de l'été et l'automne. En somme, à part quelques différences sans importance, les choses se passent comme chez le Châtaignier.

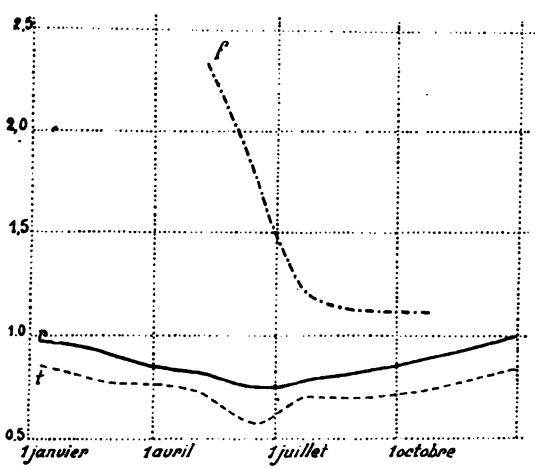


Fig. 58. — Courbes représentant les variations de l'azote dans le Poirier : *r*, racine; *t*, tige; *f*, feuille.

Digitized by Google

Saule (tableau 26, fig. 59). — Dans la tige du Saule, les choses se passent à peu près comme dans celle du Poirier, il y a un maximum en janvier, un minimum en juin et l'amplitude des variations est assez faible. Dans la racine, le maximum est toujours en janvier, mais le minimum est seulement en septembre ; de plus, pendant l'été et l'automne il y a moins d'azote dans la racine que dans la tige.

Tableau 26

	Racine	Tige	Feuille
11 janvier	1 35	1.12	
1 mars	1 26	1.05	
1 avril	1 12	0.98	
20 mai	0.91	0.89	1.96
22 juin	0.84	0 84	1.72
26 juillet	0.77	0.88	1.58
12 septembre . . .	0.56	0.92	1.47
19 octobre	0.70	0.98	1.34
19 novembre	0.78	1 03	
26 décembre	1.12	1.09	

Pendant l'été, comme pendant le printemps, la proportion d'azote de la racine diminue à cause de la migration de l'azote vers les parties aériennes et de la formation abondante d'hydrates de carbone, et bien que l'absorption d'azote soit énergique. De plus, on a vu qu'en automne la proportion des hydrates de carbone diminue fortement dans la racine ; cela peut expliquer l'augmentation de la proportion d'azote. Dans la feuille, la proportion d'azote diminue constamment depuis le printemps jusqu'à l'automne.

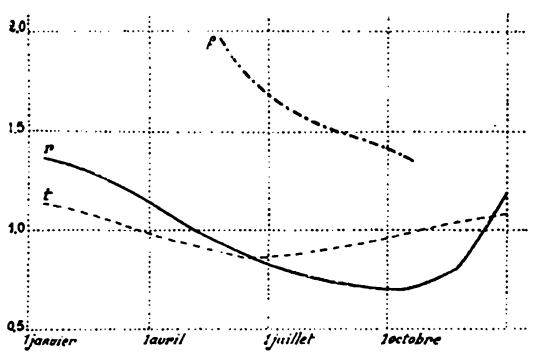


Fig. 59. — Courbes représentant les variations de l'azote dans le Saule : *r*, racine; *t*, tige, *f*, feuille,

Digitized by Google

Framboisier (tableau 27, fig. 60). — La proportion d'azote de la racine diminue rapidement en mars et avril, au moment de la formation des jeunes pousses, puis passe par un minimum vers la fin de mai, et augmente ensuite régulièrement jusqu'au mois de février. La brusque diminution du commencement du printemps est due à ce que les racines doivent fournir de l'azote aux jeunes pousses qui se forment alors très vite et qui ont par rapport aux racines une importance beaucoup plus grande que dans la plupart des autres plantes ligneuses. Puis, à partir du mois de juin, la provision d'azote de la racine se reforme.

Dans les tiges, les variations de l'azote sont bien moindres que dans la racine. Les jeunes tiges sorties du sol en avril renferment assez peu d'azote ; la proportion diminue encore jusqu'au mois de septembre, puis augmente, passe par maximum en février et diminue ensuite jusqu'à la mort de la tige. Ces variations s'expliquent comme dans le cas précédent : la proportion d'azote diminue pendant la période de croissance, puis augmente en automne lorsque, comme nous l'avons vu plus haut, les réserves hydrocarbonées diminuent. L'absorption d'azote par les racines se poursuit pendant plus longtemps dans le Framboisier, parce que les feuilles tombent beaucoup plus tard et sont encore vivantes en quantité notable au mois de janvier.

Tableau 27

	Racine	Tige	Feuille
20 mars	1.22		2.45
24 avril	0.56	0 53	1.40
9 juin	0.52	0.46	1.19
25 juillet	0.57	0.44	1.40
6 septembre	0.70	0.42	1.26
25 octobre	0.84	0.56	1.20
15 décembre	1.05	0.65	1.20
2 février	1.15	0.71	
20 mars		0.70	
24 avril		0.56	
9 juin		0.49	
25 juillet		0.52	
6 septembre		0.46	
25 octobre		0.45	

Il est remarquable que les tiges, à peu près mortes au bout de la seconde année, renferment à peu près autant d'azote que les tiges jeunes. L'azote doit exister dans ces deux circonstances sous des

Digitized by Google

formes très différentes que le procédé de dosage que j'ai employé ne m'a pas permis de distinguer. Comme dans les autres espèces étudiées, les feuilles sont beaucoup plus riches en azote au commencement du printemps que pendant le reste de l'année.

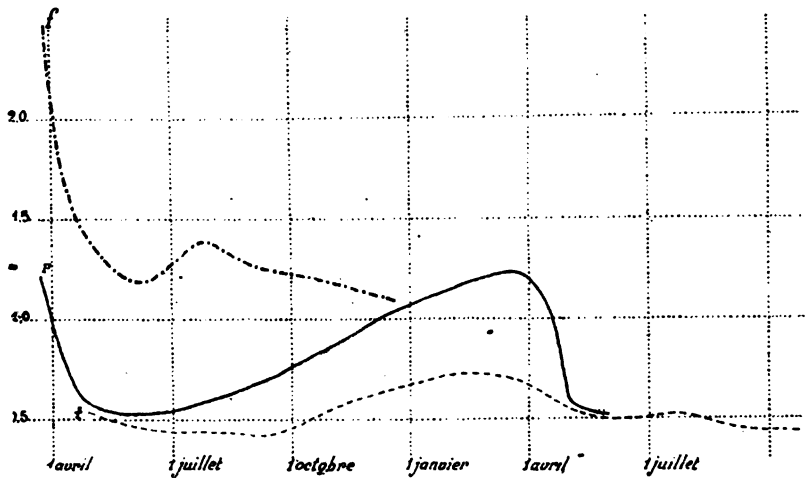


Fig. 60. — Courbes représentant les variations de l'azote dans le Framboisier : *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

V. Matières grasses.

Les matières grasses jouent un rôle très peu important dans la tige et la racine des plantes étudiées dans ce mémoire. Dans la racine du Châtaignier, par exemple, la proportion de matière extraite par l'éther anhydre varie de 0.3 °/₀ à 0,8 °/₀ et dans la tige de 0,6 °/₀ à 1,1 °/₀. Pour le Poirier et le Coignassier, j'ai obtenu des nombres analogues. Avec le Saule, les nombres sont un peu plus grands : pour la racine, l'extrait éthéré est compris entre 0,9 °/₀ et et 2,2 °/₀ et pour les jeunes tiges entre 1.4 °/₀ et 2 °/₀. La courbe des variations annuelles n'a pas une forme assez régulière pour qu'on puisse en tirer des conclusions nettes ; néanmoins, dans presque tous les cas que j'ai observés, la plus grande valeur de l'extrait éthéré correspond au mois de mai, époque où a lieu la digestion des réserves accumulées dans la tige et la racine ; peut-être alors la

Digitized by Google

matière soluble dans l'éther serait-elle un produit de désassimilation.

Les feuilles, au contraire, fournissent un extrait éthéré beaucoup plus considérable. Il est vrai que l'éther dissout non seulement les matières grasses mais encore des glucosides, des alcaloïdes, la chlorophylle et d'autres composés ternaires ou azotés. Le dosage global des matières dissoutes par l'éther ne donne donc que des indications très générales ; pour les compléter j'ai aussi traité la substance desséchée des feuilles par l'éther de pétrole conformément aux indications données dans le traité d'analyse chimique des végétaux de Dragendorff ; l'éther de pétrole dissout, comme l'éther sulfurique, toutes les matières grasses, mais laisse la plus grande partie des autres substances dissoutes par l'éther sulfurique.

En opérant sur environ 3 gr. 5 de matière sèche j'ai obtenu, avec les feuilles du Châtaignier, les nombres suivants qui expriment le poids de la matière extraite, d'un côté, par l'éther sulfurique, et, de l'autre côté, par l'éther de pétrole, ce poids étant rapporté à 100 parties de matière sèche.

D'une manière générale, le poids de la matière soluble dans l'éther augmente depuis le printemps jusqu'à l'automne, aussi bien pour l'éther sulfurique que pour l'éther de pétrole ; la différence entre les deux extraits se rapporte aux substances plus solubles dans l'éther sulfurique que dans l'éther de pétrole ou insolubles dans l'éther de pétrole.

Tableau 28

	Matière extraite par l'éther sulfurique	Matière extraite par l'éther de pétrole
20 mai	4.6	1.8
22 juin	4.4	1.3
26 juillet	5.4	3.0
12 septembre	9.3	7.4
19 octobre	8.7	5.9

Le tableau suivant donne, pour les différentes feuilles étudiées, la quantité de substance soluble dans l'éther sulfurique anhydre, cette quantité étant rapportée à 100 parties de matière sèche.

Pour les arbres proprement dits tels que le Poirier, le Coignassier, le Pêcher, le Saule, la proportion de matière grasse va en croissant régulièrement depuis le printemps jusqu'à l'automne. Dans la feuille du Châtaignier, il y a une légère diminution au mois

Digitized by Google

d'octobre qu'on peut attribuer à ce qu'à cette époque les feuilles commençaient à se dessécher. Le fait que les substances solubles dans l'éther s'accumulent dans la feuille et atteignent leur maximum en automne, au moment de la chute, montre que ces substances doivent être considérées comme des déchets, des produits de désassimilation que la plante élimine par la chute de la feuille.

Tableau 29

Poirier		Coignassier	
9 mai	2.7	9 Mai	3.3
17 juin	2.9	17 juin	3.4
22 juillet	4.0	22 juillet	5.0
7 septembre	5.1	7 septembre	5.6
16 octobre	5.9	16 octobre	6.1
Pêcher		**Saule**	
1 mai	4.9	20 mai	1.7
12 juin	5.6	22 juin	2.0
18 juillet	6.2	26 juillet	2.3
3 septembre	7.5	12 septembre	2.8
12 octobre	7.5	19 octobre	2.9

Framboisier	
20 mars	3.9
24 avril	3.7
9 juin	3.1
25 juillet	4.6
6 septembre	3.1
25 octobre	6.8
5 décembre	3.8

Pendant tout le printemps et l'été, en effet, la feuille est le siège de réactions très nombreuses, c'est une sorte de laboratoire où se produisent par synthèse, au moyen du gaz carbonique emprunté à l'air et des sels puisés dans le sol, la plupart des substances organiques utiles à la plante. Il est naturel que ces synthèses, dont on ignore d'ailleurs le mécanisme, laissent des résidus et que ces résidus soient d'autant plus abondants que l'activité de la feuille dure depuis plus longtemps..

La chlorophylle qui est l'agent essentiel des réactions qui s'effectuent dans les feuilles, est partiellement décomposée par l'action de la lumière ; les produits de sa décomposition entrent sans doute pour une large part dans l'ensemble des substances solubles dans l'éther accumulées dans les feuilles en automne. Il resterait à recher-

Digitized by Google

cher par une analyse plus complète quels sont les composés, ternaires ou azotés, qui constituent l'extrait éthéré des feuilles ; il est probable que le corps, assez mal défini d'ailleurs, et que Pringsheim a décrit en 1881 sous le nom d'hypochlorine, se trouve en assez grande proportion dans cet extrait.

Les feuilles de Saule renferment beaucoup moins de matières grasses que les autres feuilles étudiées ; par contre, les tiges et les racines sont plus riches en matières grasses que chez les autres espèces. Il s'établit là une sorte de compensation qu'on peut s'expliquer en admettant que les matières grasses formées dans les feuilles, restent dans les feuilles dans certains cas, et dans d'autres cas émigrent partiellement dans les autres parties de la plante. On peut faire des remarques analogues au sujet du Framboisier dont les tiges et les racines renferment relativement beaucoup de matières grasses.

En somme, les substances solubles dans l'éther s'accumulent dans les feuilles des arbres et paraissent être des produits de désassimilation dont la plante serait débarrassée au moment de la chute des feuilles.

VI. Eau.

Le travail le plus important qui ait été publié sur l'eau renfermée dans les plantes ligneuses est celui de Robert Hartig (1). Cet auteur a étudié le Bouleau, le Hêtre, le Chêne, le Pin, et l'Epicea ; il a recherché comment variait la proportion d'eau renfermée dans la tige sans d'ailleurs s'occuper de la racine et de la feuille ; il a de plus examiné les différences qui existaient à ce point de vue entre le liber, l'aubier et le cœur du bois. D'après ces observations, le Bouleau a un maximum d'hydratation au printemps et un minimum en automne : pour le Hêtre, la courbe est plus irrégulière ; au printemps l'eau passe par un maximum dans l'écorce et par minimum dans le bois ; pour le Chêne le maximum de l'eau est en juillet et le minimum en février ; pour le Pin, le maximum d'hydratation du

(1) Robert Hartig : Ueber die Vertheilung der organischen substanz des Wassers und Luftraumes in den Baûmen (Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institut zu Mûnchen, II, 1882).

Digitized by Google

bois est en janvier et le minimum en mai ; dans l'écorce du même arbre, au contraire, le maximum est en mai et le minimum en mars ; enfin pour l'Epicea, le maximum de l'eau est en juillet pour le bois et en mai pour l'écorce, et le minimum en mars, dans les deux cas. Ces observations ont été faites aux environs de Munich.

M. Geleznow (1) qui a également étudié les variations de la proportion d'eau dans la tige de certaines plantes ligneuses, a vérifié les observations de R. Hartig sur le Bouleau et les a étendues à l'Erable ; les variations qu'il a trouvées pour le Pin sylvestre sont irrégulières et d'ailleurs assez faibles. Ces observations ont été faites aux environs de Saint-Pétersbourg.

Les mesures que j'ai faites sur la proportion d'eau renfermée dans les plantes portent, comme pour les réserves, d'une part sur l'ensemble des tiges, d'autre part sur l'ensemble des racines et enfin sur l'ensemble des feuilles d'un même pied. Aussitôt après la récolte, la plante était divisée en 3 lots correspondant aux feuilles, aux tiges et aux racines, et qui étaient pesés puis portés dans une étuve à 90° ; au bout de 48 heures, la dessiccation était considérée comme suffisante et les plantes pesées de nouveau ; la différence du poids donnait la quantité d'eau.

Pour avoir exactement l'influence de la saison, c'est-à-dire de l'état du développement de la plante, sur la teneur en eau, il aurait fallu éviter la cause d'erreur provenant de l'irrégularité des pluies. Les résultats ne sont exactement comparables que si, au moment de la récolte des divers pieds étudiés, l'humidité du sol était constante: Or, les conditions dans lesquelles j'ai opéré, avec des plantes cultivées en pleine terre, ne m'ont pas permis de prendre ces précautions. D'ailleurs les mesures faites précédemment sur la teneur en eau des tubercules me font supposer que l'état d'humidité du sol a moins d'influence que l'état du développement de la plante.

Le tableau 30, complété par les courbes de la figure 12, montre les variations de la proportion d'eau dans la racine, la tige et la feuille du Châtaignier ; les chiffres indiquent la quantité d'eau correspondant à 100 parties de matière sèche.

(1) M. Geleznow : Recherches sur la quantité et la répartiton de l'eau dans la tige des plantes ligneuses (Annales des sciences naturelles, Botanique, 6me série, tome III, p. 344, 1876).

Digitized by Google

On voit que, dans la tige comme dans la racine, la proportion d'eau, à peu près constante pendant l'hiver, augmente rapidement au moment de la formation des nouvelles pousses, reste relativement élevée pendant toute la période active de la végétation, puis diminue au mois d'août, passe par un minimum et augmente légèrement jusqu'en hiver. La proportion d'eau des feuilles diminue du mois de mai au mois de septembre ; la légère augmentation qui se manifeste en octobre doit être attribuée à ce que les feuilles les plus âgées étant déjà tombées, les plus jeunes seules ont été étudiées.

Tableau 30

	Racine	Tige	Feuille
11 janvier	134	92	
26 février	126	89	
28 mars	125	90	
20 mai	176	154	172
22 juin	155	137	155
26 juillet	153	150	135
12 septembre	96	100	87
19 octobre	114	83	107
22 novembre	117	90	
26 décembre	121	86	

Les figures 62 et 63, qui représentent les variations de la proportion d'eau chez le Poirier et le Pêcher, montrent que, dans ces deux cas, il y a un maximum au printemps, et un minimum en automne comme Hartig l'avait trouvé pour le Bouleau. Le maximum correspond à l'époque de la végétation active et le minimum à

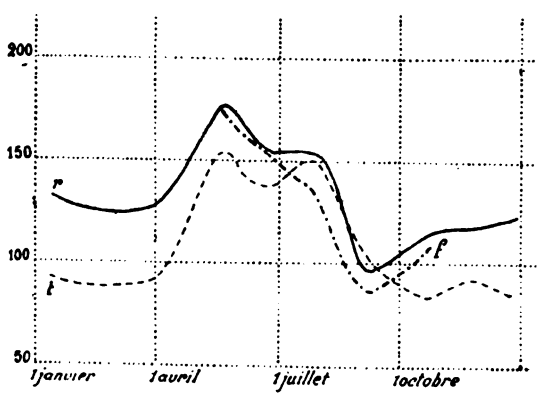


Fig 61. — Courbes représentant les variations de l'eau dans le Châtaignier : *r*, racine ; *t*, tige ; *f*, feuille.

Digitized by Google

l'époque où les réserves hydrocarbonées passent par leur maximum. Ces résultats sont absolument comparables à ceux que j'ai obtenus dans un précédent travail sur les bulbes et les tubercules (1). Dans tous les exemples étudiés, la proportion d'eau est

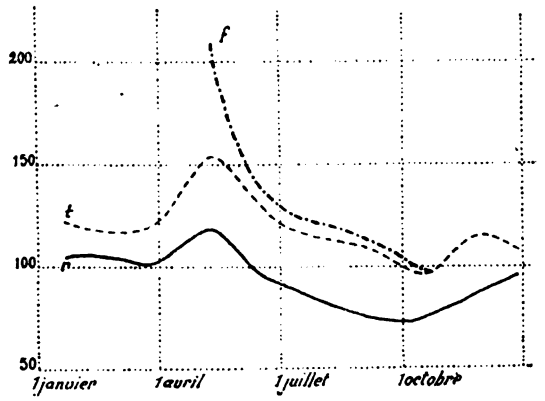


Fig. 62. — Courbes représentant les variations de l'eau dans le Poirier : *t*, tige; *r*, racine; *f*, feuille.

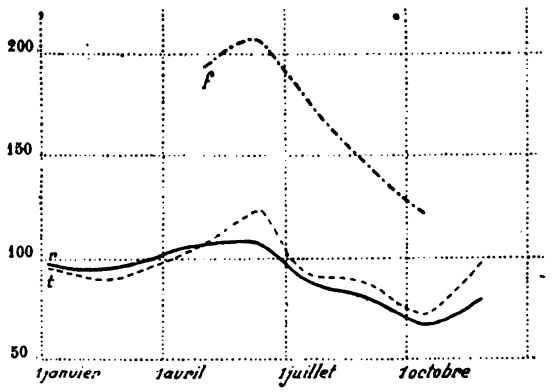


Fig. 63. — Courbes représentant les variations de l'eau dans le Pêcher : *t*, tige; *r*, racine; *f*, feuille.

minima au moment de la vie ralentie lorsque les réserves passent par un maximum, puis augmente lorsque la végétation est active et les réserves moins abondantes. Avec les tiges et les racines

(1) Recherches sur les réserves hydrocarbonées des bulbes et des tubercules (Revue générale de Botanique, 1898).

Digitized by Google

ligneuses qui sont des organes de réserves bien moins différenciés que les tubercules, les variations de la proportion d'eau sont moins nettes mais se produisent dans le même sens que chez les tubercules. On trouve dans ce parallélisme une vérification de ce fait que, pour les arbres, l'hiver est une période de vie moins ralentie que l'automne. En automne les réserves viennent de se former et passent par une courte période de repos ; pendant l'hiver la transformation des réserves commence et les nouvelles formations du printemps se préparent.

En comparant entre elles les figures 12, 13 et 14, on voit les différences relativement grandes qui peuvent exister entre les divers arbres. Dans le Pêcher, les feuilles sont beaucoup plus hydratées que les tiges et les racines, dans le Poirier, elles le sont à peine plus et plutôt moins dans le Châtaignier. Dans le Poirier, les tiges sont nettement plus hydratées que les racines ; elles le sont à peine plus dans le Pêcher et moins dans le Châtaignier. Chez ce dernier arbre d'ailleurs, les racines renferment relativement beaucoup d'eau et ont une apparence charnue caractéristique. Les autres arbres étudiés m'ont donné, avec plus ou moins de régularité, les mêmes résultats essentiels que ces trois exemples.

Conclusions.

Réserves hydrocarbonées des racines et des tiges. — Les racines des arbres à feuilles caduques se conduisent comme des organes de réserve où s'accumulent les matières hydrocarbonées. Au commencement de l'automne, au moment où on sait que les grains d'amidon sont très abondants, les réserves hydrocarbonées atteignent leur maximum. Puis, pendant l'automne et l'hiver, alors que l'amidon disparaît ou tout au moins devient moins abondant, les réserves diminuent, mais relativement peu. La plus grande partie de l'amidon qui disparaît semble être transformé en cellulose de réserve qui se retrouve dans le dosage des matières amylacées. En avril et mai, les réserves de la racine diminuent rapidement et sont consommées pour la formation des nouvelles branches et des nouvelles racines. De juin en octobre, les réserves augmentent d'une façon continue. Pendant ce temps en effet, d'une part la croissance de l'arbre s'est

Digitized by Google

ralentie et d'autre part l'assimilation est devenue intense par suite du développement des feuilles.

D'une façon générale, les tiges se conduisent comme les racines, au point de vue qui nous occupe ; mais le caractère d'organe de réserve y est moins accentué ; les réserves sont moins abondantes que dans la racine, et surtout la différence entre le maximum et le minimum des réverves est moindre; le maximum d'automne est beaucoup moins élevé que dans la racine et le minimum du printemps est quelquefois supérieur au minimum de la racine (Saule). Au commencement du printemps, on constate dans certains cas une augmentation des réserves de la tige; cela tient à ce que les réserves de la racine ont émigré dans la tige ; mais c'est là un état transitoire qu'on n'observe qu'immédiatement avant le départ de la végétation et seulement dans des cas assez rares. Dans la tige du Saule, la cellulose de réserve se dépose pendant l'hiver sur la face interne des parois des cellules ligneuses et disparaît au printemps.

Chez le Framboisier, les parties souterraines vivaces jouent nettement le rôle d'organes de réserve, tandis que les tiges bisannuelles, présentent des changements bien moindres et meurent au bout de la seconde année.

Réserves hydrocarbonées des feuilles. — Les réserves hydrocarbonées sont bien moins abondantes dans les feuilles que dans les tiges et les racines; de plus, leurs variations ne sont pas soumises à des lois aussi fixes. Les réserves hydrocarbonées se forment en effet dans les feuilles mais ne s'y accumulent pas et émigrent plus ou moins vite vers la tige et la racine.

Azote. — Dans les racines et les tiges, la proportion d'azote atteint son maximum en automne, varie peu pendant l'hiver, passe par un minimum en mai ou juin, puis augmente jusqu'en automne. Dans les feuilles, la proportion d'azote est beaucoup plus grande que dans les tiges et les racines et diminue depuis le printemps jusqu'à l'automne, d'abord très rapidement, puis lentement. Au moment du départ de la végétation, les racines et les tiges cèdent aux feuilles en voie de formation une grande partie de leur azote, et reforment ensuite peu à peu leur réserve azotée, à la fin du printemps et dans le courant de l'été.

Matières grasses. — Les matières grasses extraites par l'éther

Digitized by Google

anhydre sont en très faible proportion dans les tiges et les racines et ne paraissent jouer aucun rôle net, au moins dans les espèces étudiées dans ce travail. Il n'en est pas de même pour les feuilles où l'extrait éthéré est beaucoup plus abondant et augmente en général depuis le printemps jusqu'en automne. Les matières grasses semblent donc être un produit de désassimilation, une sorte de déchet des réactions qui aboutissent à la synthèse des matières organiques par l'assimilation chlorophyllienne.

Eau. — Dans les tiges et les racines, l'eau passe en général par un maximum au printemps et par un minimum en automne. Comme pour les bulles et les tubercules, la proportion d'eau est en rapport avec l'état de la végétation plutôt qu'avec le degré d'humidité du sol. L'automne, qui est la saison de la vie la plus ralentie, correspond au maximum des réserves et au minimum de l'eau ; c'est donc la saison la plus favorable à la transformation des arbres. Le printemps, au contraire, qui est la saison de la vie la plus active, correspond au minimum des réserves et au maximum de l'eau.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Anthérozoïdes des Crytogames vasculaires. — Belajeff (1) décrit le mode de formation des anthérozoïdes des Fougères (*Gymnogramma* et autres) et des Prêles (*Equisetum arvense*). Les anthérozoïdes sont constitués non pas seulement d'un noyau, mais aussi de protoplasme (comme ceux des Characées étudiées par l'auteur, puis par Strasburger). Dans l'anthéridie des Fougères et des Prêles, les cellules spermatogènes se multiplient par karyokinèse; le nombre des chromosomes est très grand. On ne voit jamais de centrosome aux pôles. Avant la division en deux anthérozoïdes, apparaissent, dans la cellule-mère au repos et au sein du protoplasme, deux corpuscules arrondis se colorant par la fuchsine d'une façon plus intense que le protoplasme et situés près d'une dépression du noyau (fig. 64). Ces corpuscules ressemblent à des centrosomes et, dans ses derniers mémoires, l'auteur les assimile à des centrosomes (par la méthode de Heidenhain, ils se colorent en bleu-noir comme les centrosomes). Il est possible, dit-il, qu'au moment de la mitose, il y ait aux pôles toute une série de centrosomes difficiles à voir et se rassemblant plus tard pour constituer le corpuscule colorable.

Quoiqu'il en soit chacune des deux cellules issues de la division de la cellule-mère emporte un corpuscule et se transforme en anthérozoïde. Le corpuscule prend la forme d'un croissant, puis s'allonge en filament. Ce filament est situé au bord d'un ruban moins colorable. Filament et ruban s'étirent dans le protoplasme et s'enroulent autour du noyau. On y voit apparaître des protubérances qui deviennent autant de cils vibratiles. Le corpuscule est donc comparable au blépharoplaste de Webber.

Le noyau n'a jusqu'à ce moment subi aucun changement. Il s'allonge à son tour le long de la bande spirale et prend lui-même la forme

(1) Belajeff : *Ueber den Nebenkern in spermatogenen Zellen und die Spermatogenese bei den Farnkräutern* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 15, 1897).— *Ueber die Spermatogenese bei den Schachtelhalmen* (Id). — *Ueber die Aehnlichkeit einiger Erscheinungen in der Spermatogenese bei Thieren und Pflanzen* (Id.).— *Ueber die Cilienbildner in den spermatogenen Zellen* (Id., t. 16, 1898). — *Die Centrosomen in den spermatogenen Pflanzenzellen* (Bot. Centralbl., t. 77, 1899 et Ber. deutsch. bot. Ges., t. 18, 1899).

Digitized by Google

hélicoïdale. En même temps sa structure se transforme. Il contenait un réseau avec grains de chromatine ; il devient homogène par épaississement du réticulum nucléaire et répartition égale de la chromatine. Sa masse entière semble formée de chromatine. C'est cet état qu'il conserve dans l'anthérozoïde mûr.

L'anthérozoïde est donc constitué d'un noyau en forme de filament homogène, spiralé épaissi à son extrémité postérieure chez les Fougères, court et fortement renflé à cette extrémité chez les Prêles. Le noyau est complètement revêtu de protoplasme. A la partie postérieure, le protoplasme forme une proéminence conique chez les Prêles, peu saillante chez les Fougères. Toute la partie antérieure de la spirale est de nature protoplasmique. Quant à la partie moyenne, elle présente une couche de protoplasme plus épaisse d'un côté que des autres. Le blépharoplaste se trouve sur le bord de la spirale, mais sur les tours antérieurs seulement. C'est de là que partent les cils (fig. 64 et 65). Belajeff trouve qu'il y a lieu de rapprocher ces faits de ceux que Flemming et autres ont décrit chez les animaux, la portion moyenne du spermatide serait le blépharoplaste.

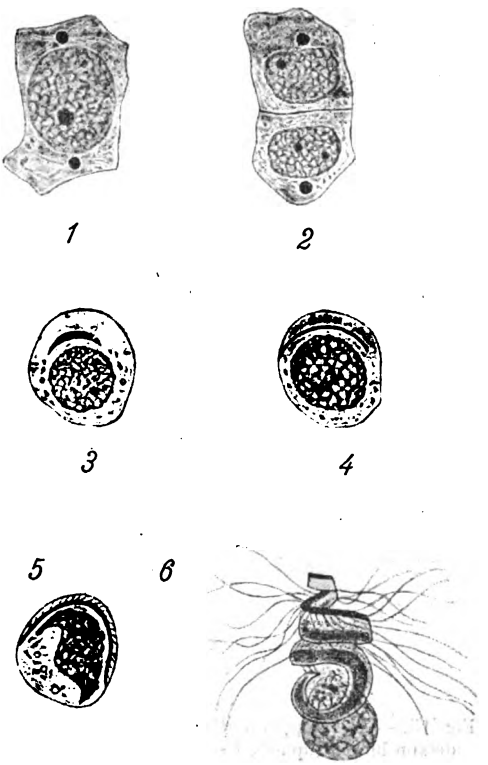


Fig. 64. — Développement de l'anthérozoïde et de son blépharoplaste chez les Fougères (d'après Belajeff).

Dans les spermatides de la Salamandre, le noyau devient homogène ; il y a des corpuscules (*Nebenkörper* de Hermann) qui s'accroissent et traversent le noyau pour venir former la portion moyenne, d'où part le flagellum.

Shaw (1) étudie diverses Filicinées (*Onoclea*, *Marsilia*). L'anthéro-

(1) Shaw : *The fertilization of Onoclea* (Ann. of Bot., t. 12, 1898) — *Ueber die Blepharoplasten bei Onoclea und Marsilia* (Ber. deusch. bot. Ges., t. 16, 1898).

Digitized by Google

zoïde est un long noyau, tordu en spirale, auquel est accolée latéralement une lame protoplasmique dépassant légèrement l'extrémité antérieure. L'apparition du blépharoplaste a lieu, comme le dit Belajeff, dans les cellules-mères des anthérozoïdes (spermatocytes secondaires), par conséquent à l'avant-dernière génération de cellules. Ces blépharoplastes restent au voisinage des pôles du fuseau au moment où le noyau se divise pour donner deux anthérozoïdes. Il n'y a pas de radiation (contrairement aux Gymnospermes). Ce ne sont pas des centrosomes puisqu'il n'existe rien de comparable aux autres mitoses. L'auteur signale dans les cellules-mères primordiales (spermatocytes primaires, anté-pénultième génération de cellules) chez *Marsilia*, la présence de corps semblables aux blépharoplastes et qu'il nomme *blépharoplastoïdes*. Dans la cellule primordiale au repos apparaît un corps qui se divise en deux; au moment de la mitose, ces corps s'éloignent du noyau et restent dans une position intermédiaire entre les pôles et l'équateur. Ils disparaissent avant la fin de la caryokinèse. En même temps, soit plus tôt, soit plus tard, se montre à chaque pôle un petit blépharoplaste.

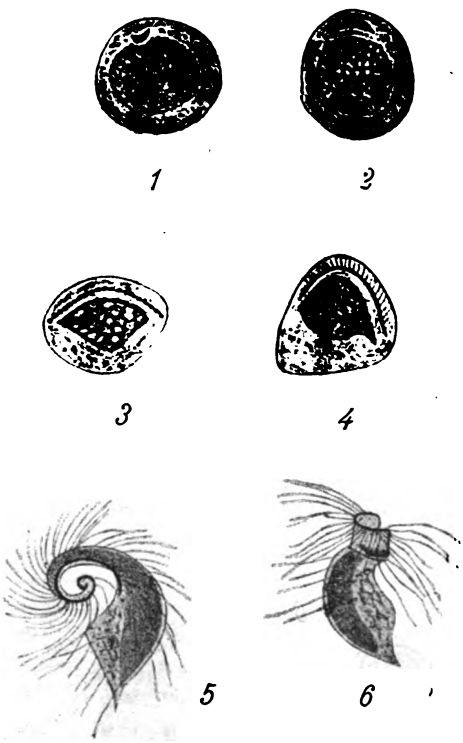


Fig. 65. — Développement de l'anthérozoïde et de son blépharoplaste chez les Prêles (d'après Belajeff).

Zacharias (2) traite par une solution de sel de Glauber contenant de la fuchsine des anthérozoïdes vivants de Characées, de Mousses, etc. Chez les Fougères (*Ceratopteris*), la partie interne de l'hélice se gonfle sans se colorer (nucléine); elle est entourée d'une enveloppe fortement colorée (protoplasme); les cils sont colorés et non gonflés.

(*A suivre*). H. Ricôme.

(1) Zacharias : *Beiträge zur Kentniss der Sexualzellen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 19, 1901).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LES ORCHIDÉES

par M. Noël BERNARD

(Planches 18 et 19)

Dans les *Études sur la Tubérisation*, publiées antérieurement par cette Revue (1), j'ai essayé de comprendre les rapports qui existent entre les modes de développement de diverses Orchidées et l'infestation de ces plantes par les champignons endophytes qu'elles hébergent habituellement.

Je montrais d'abord que l'infestation est précoce, que les jeunes plantules même sont régulièrement contaminées et que la pénétration du champignon endophyte dans l'embryon semble une condition nécessaire à la germination des graines. J'avais pu, dès lors, considérer les Orchidées comme des plantes atteintes d'une maladie parasitaire chronique qui commence à la germination et persiste en général jusqu'à l'état adulte ; maladie bénigne en un certain sens, puisqu'elle n'empêche pas la vie, mais qui ne constitue pas moins une tare physiologique des Orchidées en général, une condition de nature à faire comprendre quelques-unes des anomalies de ces plantes qui passent pour singulières aux yeux mêmes d'observateurs peu initiés à la Biologie végétale.

En cherchant à caractériser cette maladie des Orchidées par son évolution et ses symptômes, j'étais en particulier amené à considérer la tubérisation périodique des bourgeons chez certaines de ces plantes comme une des conséquences de leur infestation et je suggérais qu'il y avait là une explication possible des phénomènes de tubérisation en général.

(1) *Revue générale de Botanique*, tome XIV, 1902. Quand je renverrai par la suite à mes observations antérieures, sans préciser autrement, c'est à ce mémoire que le lecteur devra se reporter.

Digitized by Google

Le présent travail est spécialement consacré à l'étude des conditions et des phénomènes de la germination chez quelques Orchidées. Cette étude m'amènera à reprendre et à préciser les vues générales que je viens de rappeler.

Je me suis proposé :

1° De faire des semis de graines d'Orchidées dans des conditions d'asepsie rigoureuse, sur des milieux stérilisés convenables à la culture de ces plantes ;

2° D'isoler en cultures pures et d'identifier avec certitude les champignons endophytes de ces Orchidées ;

3° De comparer, pour chaque espèce, le sort des semis aseptiques à celui des semis contaminés par l'endophyte.

Je traiterai successivement ces trois points du sujet, et j'ajouterai seulement à cet exposé de faits quelques remarques sur les conditions des semis d'Orchidées dans la pratique horticole.

I

MÉTHODES DE CULTURE

Semis aseptiques des Graines

Comme je l'ai indiqué dès mes premières recherches, les graines d'Orchidées dans le fruit mûr sont indemnes de toute infestation. Pour isoler aseptiquement ces graines minuscules, j'ai appliqué le principe de la méthode des séparations sur plaque, qui est d'un usage courant pour l'isolement des microorganismes. J'indique sommairement les détails d'une série complète d'opérations.

La première et de beaucoup la plus importante des conditions est d'avoir des fruits en bon état. On doit choisir des capsules parfaitement saines, les cueillir au moment de leur maturité, quand le péricarpe jaunit, mais avant qu'elles ne s'ouvrent naturellement ; les graines des fruits ouverts, même récemment, sont souvent

Digitized by Google

déjà accompagnées de moisissures, de levures ou de bactéries, qui sont fort gênantes pour les opérations ultérieures.

Chaque fruit est lavé extérieurement avec un pinceau imbibé de formol, puis placé dans un cristallisoir stérilisé et couvert. Avec un scapel flambé on sectionne la capsule dans le sens longitudinal de façon à la séparer en deux ou trois valves auxquelles les graines restent adhérentes. Chacune des parties ainsi isolées est secouée rapidement au-dessus de l'ouverture d'un large tube de verre stérilisé par avance ; on détache au besoin avec une pelle de platine flambée les graines qui restent attachées à la paroi du fruit. Le tube étant ensuite fermé par son bouchon de coton, on le roule entre les doigts de façon à répartir les graines sur toute sa surface interne. Un premier semis d'essai est alors fait dans de larges tubes stérilisés, contenant une gelée faite avec 5 gr. de gélose et 2 gr. de glycérine pour 100 gr. d'eau, gelée qu'on a laissé prendre en couchant le tube de façon à obtenir une surface inclinée. Sur la gélose stérile de chacun de ces tubes on transporte et on répartit uniformément, avec une pelle de platine flambée, un lot d'une centaine de graines prélevées sur une petite portion de la surface du tube initial.

Déjà, dans les semis ainsi effectués, on n'a souvent aucun développement de microorganismes. Parfois des germes accidentels, introduits avec les graines, se développent en donnant à la surface de la gélose des taches limitées : avant que ces colonies microbiennes ne s'étendent, on prélève les graines qui leur restent extérieures et on les transporte sur de la gélose stérile, dans un nouveau tube, où normalement le semis reste pur.

Les graines ainsi isolées sont prêtes pour les semis définitifs. Elles sont parfaitement aseptiques : aussi bien sur les milieux nutritifs employés ensuite pour la culture que sur des milieux stérilisés divers (tranches de pomme de terre ou de carotte, bouillon de viande), elles ne donnent lieu à aucun développement microbien. *Par cette méthode les semis aseptiques sont obtenus sans que les graines aient eu à subir aucun traitement capable de les altérer.*

Conditions de Culture

Les graines minimes des Orchidées, ne contenant qu'un petit embryon sans albumen, ont une très faible quantité de réserves

Digitized by Google

nutritives. Pour réaliser des semis définitifs et des cultures, il est donc nécessaire de choisir un milieu capable de fournir aux jeunes plantes l'aliment dont elles ont besoin ; j'ajoute que, pour les expériences projetées, ce milieu doit permettre aussi la culture simultanée du champignon endophyte, sans que ce champignon prenne un développement trop considérable et étouffe les graines. J'ai employé un milieu nutritif à base de salep (1) : 2 gr. de salep en poudre sont délayés dans un litre d'eau froide et le tout est porté à l'autoclave à 120° pendant 30 minutes ; en quelques heures de repos il se sépare un coagulum qui se réunit au fond du vase ; le liquide clair qui surnage, séparé par décantation, sert de liquide culture. Quelques cultures ont été faites sur une gelée préparée en ajoutant un peu de gélose à cette décoction de salep : cette gelée est coulée dans des tubes à essai qu'on stérilise à l'autoclave et qu'on laisse refroidir en les inclinant ; les graines sont semées soit à la surface de la gélose, soit même sur le verre humide du tube, presque au contact du milieu nutritif. Pour d'autres cultures, j'ai employé des plaques de coton hydrophile appliquées sur la paroi de tubes droits ou étranglés et trempant par le bas dans la décoction de salep (Pl. 18) ; les tubes sont stérilisés à l'autoclave à 115° et les graines semées ensuite sur la plaque de coton. Quand le liquide nutritif s'évapore au cours de l'expérience et que le coton menace de se dessécher, on le pousse vers le fond du tube avec une baguette de platine flambée de façon à ce qu'il trempe de nouveau ; au besoin, on ajoute une nouvelle quantité de décoction stérile.

Les tubes de culture étaient mis en expérience au début de mes recherches dans une petite étuve vitrée à la température constante de 25° ; plus tard, j'ai disposé d'une serre dont la température a pu

(1) Le salep officinal est, comme on sait, obtenu en pulvérisant des bulbes desséchés de diverses Ophrydées d'Orient. Cet aliment, à la fois organique et salin, s'est montré très convenable à la culture des Orchidées qui sont plus ou moins saprophytes dans leur jeunesse. Il faut cependant noter que la réussite des expériences ne dépend pas étroitement de ce milieu nutritif ; en faisant des semis simplement sur des plaques de coton imbibées d'eau distillée, ou sur de la gélose pure, j'ai observé les mêmes faits essentiels : développement faible ou nul des graines sans endophyte et germination rapide par l'introduction du champignon nécessaire. En ce cas seulement la culture ne peut pas être menée loin et les jeunes plantes meurent, par affamement, après qu'elles ont consommé leurs réserves.

Digitized by Google

osciller entre 20 et 30°, mais où j'ai pu assurer plus facilement une bonne lumière diffuse et une atmosphère humide (1).

Je dirai de suite que, dans ces cultures aseptiques, les graines ne germent pas en général, soit qu'elles ne présentent aucune modification, soit qu'elles ne montrent que des changements peu importants. Parmi les espèces d'Orchidées, que j'ai étudiées dans mes précédentes recherches ou que j'étudierai ici, le *Bletia hyacinthina* seulement, dont il sera question plus loin, a pu prendre un développement relativement important en culture pure.

II

LE CHAMPIGNON ENDOPHYTE

Le plus grand nombre des observateurs qui se sont occupés de la question des endophytes d'Orchidées avaient jusqu'à présent admis, avec Wahrlich (2), que ces champignons se rattachent à des espèces diverses de *Nectria*, donnant en culture des formes *Fusarium* caractérisées par leurs conidies arquées et cloisonnées et leurs chlamydospores en chaînes (mégalospores de Wahrlich). Cette opinion s'appuyait principalement sur le fait qu'on obtient régulièrement des *Fusarium* quand on abandonne en chambre humide ou en tubes stériles des fragments de racines, tels qu'on les prélève sur les plantes, ou même après des lavages aux antiseptiques faibles. Chodat et Lendner (3), et moi-même, avons confirmé ce fait qui est indéniable. Vuillemin, d'autre part (4), avait observé, dans les cellules mêmes de tissus contaminés d'Orchidées, la production de

(1) Il est nécessaire de maintenir l'atmosphère humide pour éviter la dessiccation rapide des milieux de culture ; dans ces expériences, qui doivent durer longtemps, cela expose à avoir des contaminations par suite de la poussée de moisissures dans le coton qui bouche les tubes, si ce coton devient humide. En employant des tubes de cultures toujours flambés au four avant d'être préparés et en remplaçant périodiquement les bouchons de coton par des bouchons neufs, pris sur des tubes qui sortent du four à flamber, je suis généralement parvenu à garder mes cultures à l'abri de ces contaminations accidentelles.

(2) Beitrag zur Kentniss der Orchideenwurzelpilze. *Bot. Zeit.*, 1886.

(3) Sur les mycorhizes du *Listera cordata*. *Revue mycolog.*, 1898.

(4) *Bulletin des Séances de la Société des Sciences de Nancy*, 15 nov. 1889.

Digitized by Google

spores en chaîne qu'il considérait comme identiques aux mégalospores de Wahrlich.

Seul d'abord, Frank (1) mit en doute les résultats de Wahrlich : en observant des coupes de racines placées en chambre humide, il ne constata aucun développement du mycélium intracellulaire et il suggéra que les *Fusarium* étaient des impuretés de culture, le champignon endophyte pouvant être un parasite incapable de vivre hors de ses hôtes habituels. Gallaud (2) a récemment précisé cette critique, en montrant que des fragments de tissus contaminés prélevés avec des précautions d'asepsie rigoureuse ne donnent pas de *Fusarium* ; mais il n'a obtenu non plus aucun développement mycélien et en est resté à un résultat négatif.

Les expériences suivantes montreront que l'endophyte des Orchidées sur lesquelles ont porté mes recherches n'est pas un *Fusarium*, mais qu'il peut se cultiver en dehors des plantes qui l'hébergent.

Isolement et Identification

Dans les essais d'isolement des endophytes, qui en définitive ont réussi, je ne me suis pas préoccupé d'obtenir, du premier coup, ces champignons en culture pure. J'ai pris soit des plantules de quelques millimètres, provenant de semis faits en serre, soit de petits fragments découpés dans des racines contaminées, et j'ai placé simplement ces objets un à un dans des tubes stérilisés, sur une gelée molle obtenue en additionnant d'un peu de gélose une décoction à 5 pour 100 de salep. Les seules précautions que j'ai prises, aussi strictement que possible, ont eu pour objet d'éviter l'introduction accidentelle de germes pendant le transport des matériaux au laboratoire ou pendant les manipulations ultérieures : les plantules ou les racines ont toujours été recueillies sur place dans des tubes stérilisés ; quand j'ai eu à découper des racines au laboratoire, j'ai toujours opéré dans des boîtes de verre stériles, qui n'étaient découvertes que pour peu de temps, et en me servant d'instruments flambés.

(1) Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose der mit endotrophen Mykorhizen begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erien. *Berichte der deutschen bot. Gesell.*, 1891.

(2) De la place systématique des endophytes d'Orchidées. *Comptes Rendus*, 22 février 1904.

Digitized by Google

J'ai récolté ainsi, dans chaque cas, un assez grand nombre de champignons filamenteux qui pouvaient provenir soit du développement du mycélium intracellulaire de l'endophyte, soit de germes vivant à la surface des racines ou des plantules. Pour reconnaître, parmi ces champignons, lequel était l'endophyte, j'ai eu recours à l'expérience. En principe je faisais un grand nombre de semis aseptiques des graines de l'Orchidée dont il s'agissait, puis j'introduisais dans ces semis les unes ou les autres des espèces de Mucédinées à étudier. Pour deux Orchidées l'expérience a donné un résultat décisif : *les graines, qui ne germaient pas isolément, ont germé avec l'un des champignons essayés et seulement avec celui-là* (1); *ces graines ont donné des plantules bien développées présentant leur mode d'infestation caractéristique.* J'ai pu ainsi cultiver et identifier avec certitude les endophytes de deux Orchidées. Je dirai de suite que ces champignons d'origines différentes ont les mêmes caractères et appartiennent évidemment à la même espèce; je parlerai, dès à présent, de l'endophyte des Orchidées comme d'un être unique, sous réserve de discuter plus loin l'hypothèse que cette expression implique.

Une première expérience a été faite avec des plantes hybrides

(1) J'avais déjà indiqué dans mes recherches antérieures que les graines d'Orchidées ne germent pas quand on les cultive avec les *Fusarium* provenant de la plante porte-graine. En l'absence de tout autre résultat positif, j'avais attribué aux conditions des cultures cet échec qui tenait à une erreur d'identification de l'endophyte. Au cours des essais que j'ai à peine interrompus depuis plusieurs années, j'ai contaminé des semis aseptiques de graines par toutes les Mucédinées, isolées de mes cultures, qui pouvaient être soupçonnées de provenir du développement de l'endophyte. La plupart de ces Mucédinées, comme les *Fusarium*, se développent vigoureusement dans les cultures et étouffent les graines sans que celles ci aient montré le moindre début de germination. J'ai eu tout autant d'insuccès en contaminant les semis aseptiques par diverses espèces de bactéries également obtenues à partir de racines. Pourtant, ces bactéries n'ont pas été en général aussi nuisibles aux graines qui ont pu rester longtemps dans les cultures sans être détruites et sans devenir incapables de germer. Une de mes cultures de plantules de *Cattleya*, obtenue sur du salep gélosé par le semis de l'endophyte, a été contaminée dès le début par deux espèces de bactéries (un coccobacille et un bacille très allongé), qui forment à la surface de la gélose une épaisse couche muqueuse. Une plantule est restée vivante depuis un an dans cette culture, elle a actuellement six feuilles déployées, seulement un peu jaunies. Chacune des deux bactéries inoffensives, pas plus que toutes les deux ensemble, ne provoquent cependant la germination des graines de *Cattleya* dans les semis où on les introduit sans les associer à l'endophyte.

Digitized by Google

de *Cattleya*. J'avais reçu un fruit provenant de la fécondation de *Cattleya Mossiæ* par *Lælia purpurata*; une partie des graines me servit à faire des semis aseptiques, l'autre partie fut semée dans les serres d'Orchidées de M. Magne, à Boulogne-sur-Seine, suivant les règles ordinaires de la pratique horticole. Deux mois après, les graines de mes semis stériles n'avaient subi que les faibles changements qui seront indiqués plus loin ; les graines semées en serre commençaient à germer et se montraient déjà infestées dans la région du suspenseur. Quelques-unes de ces jeunes plantules me furent expédiées dans des tubes stériles et trois d'entre elles servirent à la recherche de l'endophyte dont j'obtins une seule culture. Cet endophyte, isolé purement et introduit dans mes semis, provoqua de suite une germination régulière.

Le second essai a été fait pour des semis de graines provenant de la fécondation du *Cypripedium spicerianum* par une variété horticole du *Cypripedium insigne* (*Cyp. ins. Sanderæ*). A défaut de plantes adultes ou de plantules de cet hybride même, j'ai cherché à obtenir un endophyte convenable à partir de racines d'un *Cypripedium insigne* cultivé dans les serres du jardin botanique à Caen. Une vingtaine de tubes préparés avec des fragments de racines de cette Orchidée me fournirent, dans une seule culture, un champignon identique à celui que j'avais isolé des plantules de *Cattleya*. Ce champignon introduit dans les semis du *Cypripedium* provoqua de même une germination immédiate.

J'ai pu encore tenter une expérience complète avec quelques plantes de *Spiranthes autumnalis* que j'avais récoltées dans les environs d'Alençon au moment de la maturité des capsules. Une vingtaine de tubes furent préparés avec des fragments infestés des grosses racines charnues de cette Orchidée et je récoltai, dans trois de ces tubes, un champignon morphologiquement identique à l'endophyte des *Cattleya* et *Cypripedium*. Ce champignon provenait certainement des racines et je ne puis guère douter qu'il soit bien l'endophyte du *Spiranthes*, surtout après avoir constaté, comme il sera dit plus loin, qu'il peut faire germer les graines d'autres Orchidées. Cependant je n'ai pas réussi à obtenir la germination des graines même du *Spiranthes*. Je n'avais, à vrai dire, qu'un petit nombre de semis aseptiques de ces graines et elles étaient restées depuis un mois exposées à la lumière, sur les plaques de coton

Digitized by Google

imbibées de mes tubes de culture, quand j'ai pu tenter l'expérience. Soit que les graines aient perdu dès ce moment leur pouvoir germinatif, soit encore que leur germination exige des conditions particulières que j'ignore, elles sont restées aussi inertes en présence du champignon que dans les semis aseptiques.

J'ai été arrêté dans d'autres essais par les difficultés que j'ai rencontrées pour isoler les endophytes, mes cultures à partir de fragments de racines ne m'ayant fourni que des Mucédinées qui ne provoquaient aucune germination de graines. On remarquera que, dans les cas même où j'ai réussi, j'ai obtenu seulement l'endophyte dans un petit nombre de cultures. Si l'on rapproche cette constatation des faits observés par Frank et Gallaud, il paraît clair que l'endophyte ne se développe qu'exceptionnellement à partir de tissus contaminés. C'est un fait qui peut se comprendre si l'on songe que ce champignon ne donne pas de spores dans les tissus qu'il envahit et qu'il est digéré tôt ou tard dans le plus grand nombre des cellules atteintes. En général, l'endophyte n'est en voie de croissance active que dans un petit nombre de cellules, aux limites des régions infestées ; encore n'est-il pas dit que la mort de ces cellules, quand on les isole des tissus voisins, n'entraîne pas la mort du parasite. Il n'est pas impossible que, dans mes cultures, l'endophyte soit provenu seulement du développement de spores ou d'hyphes superficiels et non des pelotons mycéliens intra-cellulaires, que son obtention soit ainsi presque une question de hasard et que les essais d'isolement entourés de précautions minutieuses ne puissent aboutir qu'à des insuccès (1).

Caractères

Le champignon endophyte qui a servi à mes expériences paraît être très polyphage ; j'en ai obtenu facilement des cultures pures sur la plupart des milieux nutritifs qui sont d'un usage courant

(1) Les difficultés qu'on rencontre pour isoler le champignon endophyte expliquent l'erreur faite au sujet des *Fusarium* qu'on obtient presque à coup sûr dans les cultures réalisées sans de grandes précautions. Il faut noter de plus que les hyphes stériles des *Fusarium* ressemblent beaucoup aux hyphes de l'endophyte lui-même; il n'est pas étonnant que l'examen microscopique de tissus contaminés ait pu faire croire à une continuité entre les filaments de *Fusarium* libres à la surface des racines et les pelotons serrés du mycélium intracellulaire. L'observation même de Vuillemin, qui paraissait des plus convain-

Digitized by Google

dans les laboratoires ; cependant, son développement est toujours assez lent et relativement peu luxuriant.

Dans les milieux liquides (bouillon de viande, décoction de salep), le mycélium s'accroît lentement en formant un flocon complètement immergé, difficile à dissocier ; tardivement il se forme à la surface du liquide un voile épais et gluant retenu sur les bords par les filaments qui rampent sur le verre ; le bouillon ne se trouble pas. Sur les milieux de culture solides (tranches de carottes, de pommes de terre ou de bulbes d'Orchidées, milieux à la gélose), *le mycélium reste toujours rampant*, jamais les cultures ne prennent l'aspect duveteux que montrent les Mucédinées à filaments dressés aériens ; ce mycélium de l'endophyte forme d'abord un voile mince sur toute la surface du milieu de culture ; plus tard le voile gagne la paroi de verre et il finit souvent par former un manchon de revêtement complet à l'intérieur du tube de culture dans sa partie inférieure humide. Ce voile mycélien s'épaissit peu à peu ; il prend l'aspect d'une couche crêmeuse dont la surface reste humide et qui est au début d'un blanc grisâtre ou ocracé. Après plusieurs semaines de culture les hyphes produisent des chapelets de spores rampants, réunis en groupes superficiels, étalés et diffus ; la surface de la culture prend alors un aspect granuleux, sans se dessécher. Dans les cultures de plusieurs mois, sur tranches de pomme de terre ou de carotte, le milieu de culture et le liquide qui reste au fond du tube prennent une couleur brune ocrée, de plus en plus foncée ; cette teinte arrive presque au noir pour des cultures faites sur des fragments pris dans les gros bulbes du *Loroglossum hircinum*. Les milieux à la gélatine ne sont pas liquéfiés après plusieurs mois de culture. Dans les tubes où j'ai obtenu des cultures d'Orchidées avec cet endophyte, sur du coton hydrophile imbibé d'une décoction faible de salep, le mycélium

cantes, peut facilement se comprendre, soit que l'auteur ait bien vu des *Fusarium* qui avaient sporulé dans des cellules superficielles où leur pénétration était accidentelle, soit encore, ce qui paraît plus vraisemblable, par suite d'une confusion entre les chlamydospores en chaînes décrites par Wahrlich et les chapelets de spores que l'endophyte véritable donne dans les cultures, comme il sera dit au paragraphe suivant. Le problème de l'identification du champignon endophyte des Orchidées présentait ainsi, pour l'observation, de nombreuses possibilités d'erreur et j'ajouterai volontiers que la connaissance des difficultés de sa solution m'a fait douter de la certitude des vues émises sur la nature des champignons des mycorhizes en général.

Digitized by Google

ne prend jamais qu'un faible développement ; on ne distingue à première vue les tubes contaminés des tubes témoins que par la présence d'un peu de mycélium flottant dans le liquide nutritif ou d'un faible voile transparent étalé sur le verre, au pourtour de la plaque de coton.

L'examen microscopique montre le mycélium hyalin, ramifié et cloisonné (1). Dans les cultures pures sur divers milieux, j'ai obtenu régulièrement des appareils sporifères d'une seule sorte dont la fig. 66 donne les caractéristiques. Ce sont des chapelets ramifiés de spores, rampants, insérés sur le mycélium directement ou par l'intermédiaire d'un pédicelle stérile très court; la ramification est plus ou moins riche et le nombre de spores variable. Les spores sont hyalines, elles ont en général une forme ovoïde-tronquée, leur diamètre transversal peut varier de 9 à 12 μ ; ces spores s'isolent difficilement les unes des autres, par dilacération on sépare plus souvent des fragments de chaînes que des spores isolées. On sait que, dans les tissus des Orchidées, le mycélium reste normalement stérile ; cette forme d'appareil sporifère est donc, pour le moment, la seule qu'on connaisse aux endophytes d'Orchidées.

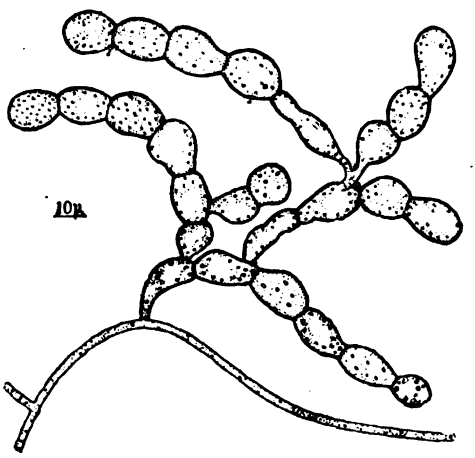


Fig. 66. — Appareil sporifère du champignon endophyte en culture pure. (Culture sur carotte, endophyte provenant des plantules de *Cattleya*).

(1) Dans les cultures les hyphes ont un diamètre de 2 à 3 μ. Dans les tissus infestés des Orchidées, le diamètre des hyphes intracellulaires est plus variable ; d'après quelques cas où j'ai pu faire la comparaison, le mycélium paraît être constamment plus ténu dans des plantules jeunes que dans des plantes adultes de même espèce. Par exemple, pour le *Neottia Nidus-avis*, j'ai mesuré des diamètres de 1 μ 6 dans les tissus de jeunes plantules, de 4 à 5 μ dans les racines de plantes adultes ; pour l'*Orchis montana*, des diamètres de 3 à 4 μ dans des plantules de deux ans, de 9 à 10 μ dans les racines de plantes adultes ; dans mes germinations expérimentales de *Cypripedium*, les hyphes intracellulaires avaient en moyenne 2 μ 5, dans les racines d'un *Cypripedium insigne* adulte 4 μ

Digitized by Google

La description que j'ai donnée ici suffira pour qu'on reconnaisse le champignon endophyte dans les cultures où l'on tenterait de l'isoler. Je m'en tiendrai, pour le moment, à cette description, sans chercher à discuter la question des affinités spécifiques de ce champignon. D'après les caractères de l'appareil sporifère, on pourrait le classer provisoirement dans le groupe des Mucédinées Oosporées, et, à ce que je crois même, dans le genre *Oospora*, en tenant compte de l'état rampant, de l'absence de pédicelles bien développés aux appareils sporifères et de l'aspect hyalin des spores ; il faudrait alors en faire une nouvelle espèce de ce genre. Mais on doit remarquer que le genre *Oospora* de Wallroth, même si l'on n'y réunit pas les *Actinomyces*, renferme un ensemble assez confus d'espèces, dont beaucoup n'ont sans doute aucune affinité réelle avec les autres ; c'est un groupement provisoire qui devra fatalement être dissocié. Le champignon endophyte des Orchidées, ne fût-ce que par son habitat très spécial, méritera sans doute une place à part. Encore faudrait-il savoir si les endophytes de plantes diverses, qui ont un habitat comparable, sont spécifiquement voisins et peuvent entrer dans un ou plusieurs groupes naturels. Pour le moment, je ne crois pas qu'aucun autre de ces endophytes de plantes supérieures, si l'on excepte le parasite des Légumineuses, ait été cultivé et identifié par des méthodes expérimentales parfaitement sûres. Il faudra rechercher des termes de comparaison pour pouvoir aborder la question d'une manière profitable.

Ubiquité de l'Endophyte

La description précédente s'applique aux endophytes provenant nant des *Cattleya*, *Cypripedium* et *Spiranthes*, obtenus et identifiés comme je l'ai dit ; les champignons ayant ces origines différentes ne se distinguent pas plus par les caractères macroscopiques de leurs cultures que par leurs caractères microscopiques, ils appartiennent évidemment à la même espèce. La constatation de cette identité faisait prévoir que ces Orchidées ont bien un même champignon endophyte, capable de contaminer indifféremment les unes et les autres. C'est ce dont j'ai tenu à m'assurer directement, car il n'était pas impossible qu'on fût ici en présence de *races physiologiques* d'une même espèce, n'ayant que des différences

Digitized by Google

morphologiques peu sensibles, mais adaptées pourtant chacune à un hôte.

Dans ce but, j'ai ensemencé, avec les endophytes des trois origines différentes, des tubes comparables contenant des semis aseptiques soit du *Cypripedium*, soit des divers hybrides de *Cattleya*, *Lælia*, *Brassavola* dont la germination sera étudiée plus loin. La germination a été obtenue dans tous ces essais et les semis ont progressé de la même manière, quelle que fût l'origine des cultures d'endophyte employées. La conclusion s'impose donc que les plantes étudiées des genres *Cypripedium*, *Cattleya*, *Lælia*, *Brassavola* et *Spiranthes* ont le même endophyte, aussi bien défini par ses caractères morphologiques que par ses propriétés physiologiques. On verra que ce champignon peut aussi contaminer d'une manière normale les plantules du *Bletia hyacinthina*, et, bien que je n'ai pas réussi à isoler l'endophyte de racines infestées des plantes adultes de cette espèce, il n'est guère douteux qu'on doive ajouter le genre *Bletia* à la liste de ceux que je viens de citer.

Ces Orchidées chez lesquelles le même endophyte se retrouve appartiennent à des tribus diverses de la famille. Elles sont aussi originaires de pays très différents : les *Cypripedium insigne* de nos serres sont importés de l'Inde, les *Cattleya* proviennent en général de l'Amérique tropicale, le *Bletia hyacinthina* est une plante d'Extrême-Orient, le genre *Spiranthes* comprend les Orchidées les plus cosmopolites. On doit, d'après cela, considérer comme hautement probable que ce même endophyte est commun, non-seulement à ces Orchidées, mais encore à bien d'autres et qu'il est un parasite spécifique plutôt de la famille que de tel ou tel genre. On se trouve ici dans un cas comparable à celui du *Rhizobium* qui peut indifféremment produire des nodosités sur les racines de Légumineuses diverses.

Je ne voudrais cependant pas donner comme une certitude que toutes les Orchidées ont le même endophyte, bien que cela me paraisse vraisemblable d'après les résultats que je viens d'indiquer. Pour légitimer une conclusion de cette nature, il faudrait des expériences portant sur un plus grand nombre de genres ; il reste possible qu'on trouve sinon un grand nombre d'endophytes très différents, du moins quelques endophytes spécifiquement voisins de celui que j'ai étudié et particuliers à certains genres ou à certaines tribus de la famille.

Digitized by Google

Quoiqu'il en soit, l'endophyte que je possède, capable de vivre librement et appartenant à des Orchidées très différentes, doit avoir dans la Nature une grande extension géographique. On comprend dès lors que les Orchidées à la germination desquelles il est indispensable soient capables de se propager par leurs graines et d'envahir des localités nouvelles. Si l'endophyte, au lieu d'être ainsi un microorganisme banal du sol, n'avait qu'une aire géographique d'extension restreinte, les Orchidées correspondantes ne pourraient pas dépasser les limites de cette aire et la facile dissémination de leurs graines légères ne serait qu'un avantage tout à fait illusoire.

III

LA GERMINATION DES ORCHIDÉES

1° Cypripedium (Pl. 18 et 19)

Les graines de *Cypripedium* qui ont servi à mes expériences avaient été obtenues en serre et provenaient d'une fécondation croisée (*Cyp. spiceranium* × *Cyp. insigne Sanderæ*). Chacune comprend un embryon ovoïde et un tégument réduit au réseau transparent formé par les membranes de contact épaissies des cellules (Pl. 19, *t*, fig. 7). L'embryon (Pl. 19, fig. 2), a en moyenne 250 μ de plus grand diamètre ; il est ovoïde et sans suspenseur différencié ; on peut distinguer facilement ses deux pôles : au pôle dirigé vers le micropyle, que j'appellerai pour abréger « pôle suspenseur », les cellules sont relativement grandes et à protoplasma hyalin ; vers le pôle opposé, que je désignerai comme « pôle végétatif », les cellules sont plus petites et remplies de granulations, colorables en brun par l'iode, qui sont sans doute des réserves albuminoïdes. Dans un grand nombre de graines mûres que j'ai soigneusement examinées à ce point de vue, je n'ai jamais trouvé d'amidon. Les deux

Digitized by Google

pôles de l'embryon sont souvent coiffés de petites strophioles, restes des tissus ovulaires desséchés (Pl. 19, *s*, fig. 2). (1)

Marche des Expériences

Les graines furent semées, par lots d'une trentaine, sur des plaques imbibées de la décoction de salep, soit aseptiquement, soit en même temps que l'endophyte. L'expérience ayant commencé à la fin de décembre, j'ai laissé les tubes de culture, dans la serre, en pleine lumière pendant les mois d'hiver ; plus tard, je les ai protégés du soleil trop ardent en les plaçant derrière des vitres blanchies.

En semis aseptiques, les graines ne montrent aucun changement appréciable : après plusieurs mois de culture elles sont encore dans le même état qu'au moment du semis ; tout au plus, l'embryon s'est gonflé d'une façon à peine perceptible. Le tube I (Pl. 18) photographié trois mois après le semis, montre cet état stationnaire des graines.

L'introduction de l'endophyte dans les semis provoque une germination rapide et régulière. Dès la fin de la première semaine après que l'endophyte a été semé, il devient évident que les graines germent : les embryons prennent une couleur laiteuse et grossissent en déchirant le tégument (Pl. 19, fig. 7). Dans le cours du premier mois, les poils absorbants poussent et les plantules verdissent. Elles déploient ensuite progressivement leurs feuilles. Au cours du quatrième mois on voit sortir la première racine (Pl. 19, fig. 9). J'ai arrêté l'expérience au bout de cinq mois, après avoir obtenu des plantules qui avaient déployé cinq feuilles et formé deux racines (Pl. 19, fig. 10). Ces plantules étaient encore à ce moment parfaitement fraîches, dans les tubes de culture où je les avais

(1) Cette description s'applique aux graines mûres, dont l'embryon ne m'a jamais montré de restes reconnaissables d'un suspenseur. J'ai pensé être en présence d'un cas comparable à celui du *Cyp. spectabile* chez lequel l'embryon ovoïde provient directement du développement de l'œuf sans formation d'aucun suspenseur transitoire. On sait que chez certains *Cypripedium* (*C. barbatum*, *C. venustum*) il se forme, pendant le développement de la graine, un suspenseur très court. On sait aussi que chez quelques Orchidées (*Vanda*, *Phalænopsis*) des strophioles, semblables à celles dont j'indique ici l'existence, sont les restes d'un suspenseur hautement différencié qui se dessèche pendant la maturation des graines (Cf. Treub, *Notes sur l'embryogénie de quelques Orchidées*, Amsterdam, 1879).

Digitized by Google

isolées une à une ; j'aurais pu sans doute les y élever plus longtemps, mais il n'est en tous cas pas douteux qu'il s'agissait là de plantules bien constituées et capables d'une longue vie.

La régularité des phénomènes de la germination dans ces conditions expérimentales précises est des plus frappante, pour qui connait l'incertitude du succès des semis faits en serre. Au début de l'expérience, dans les tubes où j'ai introduit l'endophyte, la plupart les graines germaient en même temps et progressaient de la même manière ; il restait parfois cependant des graines qui ne se développaient pas, ce qui pouvait tenir à leur constitution ou à un dommage subi pendant les transports successifs nécessaires pour réaliser les semis aseptiques. Le tube II (Pl. 18) qu'on comparera au tube I montrera cette régularité de la germination ; il s'agit d'un semis de trois mois où toutes les plantules sont bien à peu près au même état, serrées les unes contre les autres, en petites touffes vertes (1). Dans la suite, j'ai observé que le pouvoir germinatif des graines se perdait très vite : au bout d'un mois et demi, l'introduction du champignon endophyte dans les semis ne provoque plus que quelques germinations dans chaque tube ; après deux mois et demi d'attente, je n'ai plus pu obtenir aucune germination dans les semis qui étaient restés exposés à la lumière ; mais, à la même époque, j'ai eu encore une germination assez régulière de graines que j'avais conservées sur la gélose humide de tubes stériles enfermés dans un placard obscur.

Phénomènes du développement

La méthode de culture expérimentale que j'ai employée donne des facilités exceptionnelles pour se procurer des plantules à tous les états successifs du développement. J'ai cherché à suivre les phénomènes de la germination pas à pas, j'en retracerai ici l'histoire en suivant l'ordre dans lequel ces phénomènes se succèdent et s'enchaînent (2).

(1) Dans ces semis serrés, les plantules ne progressent guère au-delà du stade qu'elles ont atteint à ce moment ; pour poursuivre leur culture, il faut les transporter une à une dans de nouveaux tubes ; c'est ce qui été fait, de bonne heure, pour la plantule du tube III qui a seulement un mois de plus et est à un état de développement beaucoup plus avancé.

(2) Les plantules ont été en général fixées au liquide de Perenyi ; les coupes en série, faites après inclusion à la paraffine, ont été colorées par l'hématoxyline au fer, suivant la méthode de Heidenhain, puis par le rouge magenta.

Digitized by Google

L'infestation de l'embryon est le premier phénomène de la germination; ce n'est qu'à partir du moment où l'endophyte *a pénétré* dans quelques cellules que le développement commence. L'infestation se fait toujours par les grandes cellules du pôle suspenseur. Cette règle, que j'ai soigneusement vérifiée dans ce cas, paraît bien être une règle générale : j'avais déjà observé le même fait chez les Orchidées dont j'ai étudié antérieurement la germination (1).

A partir de ce premier point envahi, l'endophyte se propage de proche en proche; au pôle opposé de la plantule il se différencie un sommet végétatif qui semble fuir devant l'infestation. Dans la série des phénomènes du développement à partir de ce moment, je distinguerai trois périodes.

Pendant la *première période*, qui dure une quinzaine de jours, l'embryon s'accroît en déchirant le tégument de la graine (Pl. 19, fig. 7); il se forme un petit tubercule piriforme, de 500 à 600 μ de diamètre qui prend une couleur laiteuse par suite de la formation d'une grande quantité d'amidon; la plantule ne produit encore pas de chlorophylle, même si elle est en pleine lumière; il ne se forme pas non plus de poils absorbants. La figure 3 (Pl. 19) reproduit l'aspect d'une plantule, en section longitudinale, vers la fin de cette première époque de la vie. La comparaison de cette figure à la figure 2 (Pl. 19), qui montre l'état d'une graine, suffira pour qu'on comprenne comment les premiers phénomènes du développement se sont succédé.

Les grandes cellules du pôle suspenseur, les premières infestées, gardent leur forme et leur taille primitives. L'accroissement de l'embryon est principalement dû tout d'abord à la croissance des cellules de sa zone moyenne, dont le diamètre est à peu près doublé. Cette croissance des cellules précède leur infestation, l'endophyte ne les envahit que quand elles ont atteint leur taille définitive. Par la suite, il en sera toujours ainsi : à chaque moment on

(1) Treub (*loc. cit.*) a observé généralement que, chez les Orchidées à suspenseur non différencié, les cellules du pôle suspenseur ont des parois cellulosiques, tandis que les cellules épidermiques du reste de l'embryon sont cutinisées extérieurement. Cette différence de constitution des membranes peut bien faire comprendre que le pôle suspenseur soit prédestiné à l'infestation, mais je ne pense pas qu'elle suffise à expliquer que cette infestation soit rapide et régulière comme elle l'est dans les cultures; je serais assez disposé à croire que les hyphes se dirigent d'abord vers le pôle suspenseur par suite d'un phénomène de chimiotropisme dû à une sécrétion particulière de cette région de l'embryon.

Digitized by Google

trouvera en avant de la région infestée une *zone de croissance* (Pl. 19, *c*, fig. 4 et 5) à cellules indemnes. Si l'on veut s'arrêter à ce premier phénomène, en se rappelant que la croissance en général est due surtout à une absorption d'eau, on conclura que *la pénétration de l'endophyte a été immédiatement suivie d'une absorption d'eau par l'embryon, les cellules qui absorbent et s'accroissent n'étant pas celles qui sont infestées.*

Je n'ai pas observé avec certitude de cloisonnements dans ces cellules de la région moyenne; mais une multiplication cellulaire active se produit de bonne heure au pôle végétatif où il se constitue un méristème terminal, séparé de la région infestée par la zone de croissance. Par suite de l'accroissement des nouvelles cellules de ce méristème le volume augmente progressivement vers le pôle végétatif et la plantule prend la forme d'une toupie (Pl. 19, fig. 7).

La formation d'amidon est un phénomène très précoce : dès que l'embryon prend un accroissement appréciable à la loupe, il prend aussi l'aspect laiteux, et l'on y trouve en abondance de l'amidon, le plus souvent en grains composés (Pl. 19, *a*, fig. 3). Les cellules à amidon entourent exactement et complètement la région infestée: ce sont, d'une part, les cellules épidermiques, que l'endophyte n'envahit jamais, d'autre part, les cellules de la zone de croissance (1).

Dans la suite, de l'amidon se forme sans cesse dans la zone où les cellules s'accroissent, et disparaît de ces cellules quand l'endophyte les envahit; mais dans les cellules épidermiques l'amidon reste accumulé plus longtemps : dans les plantules les plus âgées que j'ai examinées, les cellules épidermiques contenaient encore des grains d'amidon, même dans la région inférieure des plantules la première formée au cours du développement (2).

(1) Au début de la vie au moins, cet amidon provient de la transformation des réserves nutritives de la graine : des graines mises à germer sur des plaques de coton imbibées d'eau distillée ont formé d'abord presque autant d'amidon que les graines nourries avec la décoction de salep.

(2) J'ai indiqué autrefois qu'il en était ainsi chez le *Neottia Nidus-avis*, où l'amidon des portions postérieures du rhizome ne disparaît pas même complètement quand la plante fleurit après une dizaine d'années d'existence. Il ne faut pas perdre de vue qu'il s'agit ici de plantes anormales, chez lesquelles les phénomènes de la nutrition ne se règlent pas toujours d'une façon harmonieuse, comme ils se règlent en général chez les plantes non infestées.

Digitized by Google

Ce qui frappe le plus, au premier examen des coupes faites dans les graines en germination, c'est l'extension considérable de la région infestée. Au début de leur vie, les plantules offrent évidemment une résistance très faible à l'endophyte, qui arrive à envahir plus des deux tiers de leur masse, en arrière du point végétatif. Il faut remarquer pourtant que, si l'infestation s'étend ainsi d'abord avec rapidité, elle ne récidive pas ensuite : les grandes cellules du pôle suspenseur sont la seule porte d'entrée du parasite que les autres cellules épidermiques ne laissent pas pénétrer ; même dans les plantules les plus âgées que j'ai examinées ces cellules épidermiques, situées à la pointe inférieure des plantules, étaient restées indemnes. Dès la fin de la première période, une réaction commence à se produire : dans un grand nombre de cellules infestées les pelotons de mycélium sont digérés et réduits à des masses de dégénérescence amorphes qui restent accolées au noyau cellulaire ; il ne reste plus guère d'endophyte vivant que dans les cellules qui sont au contact de la zone de croissance (Pl. 19, *m*, fig. 4).

La première période de la vie aboutit ainsi à la constitution d'un petit tubercule, qui se retrouvera à la pointe des plantules plus avancées, toujours dans le même état, à ceci près que, dans toutes les cellules primitivement infestées les pelotons de mycélium auront été digérés et détruits. Pendant cette première période les plantules de *Cypripedium* ressemblent beaucoup aux plantules du *Neottia Nidus-avis*, en particulier par la grande importance de l'infestation, le manque de poils absorbants, l'absence de chlorophylle et l'accumulation d'amidon. Mais tandis que, chez le *Neottia*, cet état persiste pendant toute la vie, la plante restant toujours largement infestée, dépourvue de poils absorbants et sans chlorophylle, chez le *Cypripedium* au contraire les phénomènes vont changer d'allure : l'infestation se limitera de plus en plus, des organes absorbants se formeront, la chlorophylle apparaîtra ; en un mot, la plante passera d'un état de saprophytisme complet à un état d'hémisaprophytisme de mieux en mieux caractérisé.

La *seconde période* de la vie dure environ trois mois ; elle est essentiellement caractérisée par la limitation étroite de l'infestation et par la croissance du tubercule embryonnaire qui s'élargit de plus en plus vers le sommet, se couvre latéralement de poils absorbants et forme un bourgeon terminal où la chlorophylle

Digitized by Google

apparaît; elle prend fin au moment où la plante produit sa première racine.

Dès le début de cette période, le mycélium intracellulaire est digéré dans toutes les cellules qui forment la masse du tubercule primitif; les cellules où il reste du mycélium vivant ne forment plus qu'un anneau étroit, au-dessous de l'épiderme, entre la région infestée primordiale et la zone de croissance (Pl. 19, *m*, fig. 5). C'est quand l'infestation s'est ainsi limitée que les premiers poils absorbants apparaissent; ils résultent de l'allongement des cellules épidermiques qui sont juste en avant de la région infestée de mycélium vivant. Peu après le moment où les premiers poils ont poussé, l'ébauche de la première feuille se forme au pôle végétatif et verdit.

Dans la suite, l'endophyte s'étend de proche en proche, mais toujours en restant localisé dans les premières rangées de cellules sous-épidermiques. Les cellules de la région centrale de la plantule restent indemnes; pendant que les feuilles successives se développent, ces cellules se différencient en un faisceau vasculaire axial (Pl. 19, *v*, fig. 6) séparé de la région infestee par une gaîne de cellules à amidon. A mesure que l'infestation progresse, de nouveaux poils absorbants apparaissent, toujours en avant de la zone infestée du moment. On ne voit pas de mycélium dans ces poils, tant qu'ils sont jeunes, à l'époque où ils ont sans doute les fonctions les plus actives; en cela les poils ne diffèrent pas des autres cellules épidermiques et ils suivent aussi la règle commune à toutes les cellules, qui ne s'infestent jamais avant la fin de leur croissance. Dans les poils âgés, au contraire, dont le rôle physiologique doit être restreint ou fini, on voit assez souvent du mycélium. Je pense que ce mycélium provient de la plantule et non de l'extérieur, car on voit fréquemment des filaments en voie de croissance dirigés vers l'extrémité libre de poils et ne l'ayant pas atteinte; mais, à ce sujet, l'observation ne peut pas donner de certitude dans tous les cas; il peut s'agir de mycélium venant de l'extérieur et ayant pénétré par la base des poils (1).

(1) Cependant, au moins à la partie antérieure de la région infestée, il n'y a jamais pénétration de filaments venant de l'extérieur; le mycélium, en voie de progression continuelle à ce niveau, provient uniquement du développement des hyphes qui ont pénétré la graine au début de la germination. La première infestation suffit à assurer la contamination définitive; peut-être confère-t-elle aux plantules, dans les deux premières périodes de leur vie, une sorte d'immunité qui les met à l'abri de toute infestation nouvelle.

Digitized by Google

A la fin de la seconde période, la plantule a l'aspect qu'indique la figure 8 (Pl. 19) : elle se termine inférieurement par un *tubercule embryonnaire* conique, couvert de poils absorbants partout sauf à sa pointe ; sur la base élargie du cône s'insère la jeune tige, encore courte, entourée par les gaines foliaires. Il y a, à ce moment, trois feuilles déployées dont la couleur verte tranche avec l'aspect laiteux que le tubercule inférieur a gardé aussi bien dans sa partie couverte de poils qu'à sa pointe. C'est quand les choses sont arrivées à cet état que l'ébauche endogène de la première racine apparaît presque sur le flanc du bourgeon terminal (Pl. 19, R_1, fig. 6).

Je connais seulement les débuts de la *troisième période* de la vie ; ils sont bien marqués par la limitation définitive de l'infestation primaire, l'allongement de la tige et la sortie des racines. Pendant un court moment, au début de cette troisième période, on peut considérer que la plantule a triomphé dans sa lutte contre l'infestation qui n'a pas eu d'arrêt depuis le début de la vie. Le parasite, après une période d'extension, a été détruit dans le plus grand nombre des cellules, il végète bien encore dans une zone restreinte (Pl. 19, *m*, fig. 6), mais il ne s'étend plus ; la jeune tige qui va se constituer ne sera pas atteinte, et le rhizome, dont elle est le début, restera indemne jusqu'à l'état adulte (1).

On trouve ici, en somme, un phénomène comparable à celui que montre l'évolution des Orchidées à bulbes : chez ces plantes, en effet, le premier bulbe, qui se sépare de l'axe embryonnaire tubérisé et infesté n'héberge pas d'endophyte. Mais, dans le cas du *Cypripedium*, comme dans le cas des Ophrydées, la plante n'échappe que pour un temps très court aux atteintes du parasite et l'infestation récidive dès que de nouveaux organes absorbants sont formés.

La première racine adventive ne se contamine pas en traversant les tissus de la tige, bien qu'elle passe presque au contact de la zone infestée (Pl. 19, R_1, fig. 6) ; au moment où elle apparaît au dehors, elle est d'une belle couleur blanche et couverte de longs poils absorbants, mais elle ne tarde pas à s'infester au contact du

(1) La tige restait indemne dans les plantules les plus âgées que j'ai examinées et l'infestation ne s'était pas étendue ; d'autre part, chez tous les *Cypripedium* que j'ai étudiés à l'état adulte, en particulier chez le *Cypripedium insigne*, le rhizome était indemne, les racines seules étant régulièrement infestées. Ces observations me paraissent autoriser l'affirmation que j'avance.

Digitized by Google

coton contaminé, elle reste courte et elle brunit. Il s'agit bien ici d'une infestation secondaire, car les coupes faites dans les plantules au stade représenté par la figure 9 (Pl. 19) montrent clairement que la zone corticale infestée de la racine est sans continuité avec la zone infestée primitive du tubercule embryonnaire. La seconde racine qui se forme au-dessus de la première est certainement indemne aussi à l'origine, puisqu'elle traverse la tige dans une région non contaminée. Quand elle apparaît au dehors, elle a encore une belle couleur blanche et est couverte de longs poils (Pl. 19, R_2, fig. 10).

A ce stade, où mes observations s'arrêtent la plante possède déjà une constitution qui rappelle de près celle de l'état adulte. Sans doute, il faudrait limiter la troisième période embryonnaire au moment où s'établit la végétation sympodique caractéristique de l'état adulte ; mais j'ignore à quel moment ce phénomène se produit.

Phénomènes histologiques

L'examen des figures 2 et 3 (Pl. 19) permettra de rétablir l'histoire d'une cellule prédestinée à l'infestation. Au moment où cette cellule vient de se former à la suite d'une division dans le méristème terminal, son noyau est comparable pour la taille aux noyaux des cellules de la graine mûre, il en diffère par l'existence d'un nucléole. Une hypertrophie du noyau se produit déjà au moment où la cellule est en voie de croissance, au contact de la zone infestée ; cette hypertrophie s'accentue quand les hyphes pénètrent la cellule et, finalement, le noyau atteint le double de son diamètre primitif. L'invasion de l'endophyte entraîne aussi la disparition rapide de l'amidon formé pendant la période de croissance.

Tôt ou tard, dans toutes les cellules infestées, le protoplasma et le peloton de mycélium sont réduits à une masse de dégénérescence amorphe accolée au noyau (Pl. 19, *d*, fig. 3). Arrivées à ce stade les cellules infestées forment un tissu mort ; leurs noyaux, qui pendant longtemps paraissent rester en bon état, montrent à la fin des signes manifestes de dégénération, la chromatine se réunit en une masse étoilée centrale séparée de la membrane nucléaire par une auréole claire, souvent à ce moment le noyau se déforme. Dans la lutte entre le parasite et la cellule qu'il envahit les deux adversaires ont fini par succomber.

Digitized by Google

2° Cattleya, Lælia, Brassavola

Les faits que j'exposerai dans ce paragraphe ont trait à la germination de graines hybrides provenant de la fécondation de *Cattleya Mossiæ* par *Lælia purpurata* ; dans la suite j'appliquerai simplement le nom de *Cattleya* à ces graines et aux plantules qu'elles ont données. J'ai fait germer aussi d'autres graines hybrides de genres voisins (*Cattleya Trianæi* × *Lælia harpophylla ; Brassavola fragrans* × *Cattleya Trianæi ; Brassavola fragrans* × *Lælia-Cattleya Ascanio*, ce dernier étant lui-même un hybride de *Cattleya Trianæi* × *Lælia xanthina);* toutes ces graines germent de la même manière, autant que j'ai pu le voir d'après une étude sommaire. Je me limiterai donc à l'étude d'un seul cas, les expériences multiples que j'ai faites ayant eu pour unique intérêt de montrer que le même endophyte convient bien à des plantes diverses.

Marche des Expériences

L'examen des conditions générales de l'expérience met en évidence un contraste frappant entre le *Cattleya* et le *Cypripedium*. *En milieu aseptique, les embryons de* Cattleya *présentent un début de développement, mais leur évolution s'arrête à un stade peu avancé ; ce* stade critique *ne peut être dépassé qu'après l'infestation et dans des conditions de culture convenables.*

J'avais au début plusieurs centaines de graines en parfait état, semées aseptiquement sur de la gélose pure, sur de la gélose au salep ou sur la paroi humide des tubes de culture. Dans ces semis aseptiques, toutes les graines se sont d'abord développées de même en présentant une évolution parfaitement régulière, un peu plus rapide seulement pour les graines semées sur de la gélose pure et bien humide que pour les autres. Dès les premières semaines les embryons se gonflent et verdissent ; il se forme ainsi de petites *sphérules* bien visibles à l'œil nu. Ces sphérules, une fois formées, ne progressent plus qu'avec une grande lenteur pendant deux ou trois mois ; elles sont alors dans la période critique et, à ce moment, l'infestation produit son plein effet en assurant un développement rapide et régulier. Si l'on prolonge la culture sans l'endophyte les sphérules entrent dans une phase de dégénérescence : leur pouvoir

Digitized by Google

germinatif se perd graduellement, et les phénomènes de développement peu importants qu'elles présentent encore deviennent plus irréguliers. Au bout de huit mois et demi la plupart des sphérules que j'avais conservées sans les infester étaient brunies et mortes; une dizaine seulement avaient encore des parties vertes et paraissaient en moins mauvais état; l'infestation de ces dernières sphérules survivantes ne m'a plus donné que trois germinations dont les progrès ont été pénibles au début (1).

Pour que le développement des sphérules se poursuive, l'introduction de l'endophyte est nécessaire; j'examinerai plus loin par le détail quelles sont ses conséquences. Mais un fait inattendu a été mis en évidence par l'expérience : *l'infestation est une condition nécessaire mais non suffisante, elle n'a toute son efficacité que si l'on réalise des conditions de culture convenables, assez particulières.* C'est sur ce fait que je voudrais tout d'abord insister.

Les graines de *Cattleya* sont les premières dont j'ai réussi à obtenir la germination; dans mes expériences de début, je me servais, comme j'ai dit, de milieux gélosés, les graines étant semées en partie sur la surface inclinée de gélose et en partie sur le verre du tube. J'avais employé ce dispositif presque au hasard et surtout à cause de la facilité qu'il donnait pour étudier jour par jour les progrès des plantules en examinant directement le tube à un faible grossissement du microscope. A priori, ces conditions de culture ne paraissent pas favorables. D'une part, même quand on maintient les tubes inclinés, comme je l'ai toujours fait, la gélose finit par se dessécher plus ou moins au bout de quelques mois. D'autre part, les graines semées sur le verre sont soumises à des alternatives fréquentes d'humidité ou de sécheresse : les tubes de culture étant laissés dans la serre, dont la température n'était règlée qu'à peu près, des gouttelettes d'eau se condensent sur le verre chaque fois

(1) Je n'ai constaté *aucune exception* à cet arrêt de développement en milieu aseptique, pas plus pour le *Cattleya* spécialement étudié ici que pour les espèces voisines citées plus haut. Or, j'ai expérimenté sur quatre espèces et j'ai toujours préparé plus d'une vingtaine de tubes avec chaque sorte de graines; comme chaque tube contenait un nombre de grains pouvant varier de vingt jusqu'à une centaine, c'est en définitive sur *plusieurs milliers de graines* que l'expérience a porté. Uniformément, le développement s'est arrêté à cet état de *sphérules* dont les caractéristiques précises, que je donnerai plus loin, étaient à très peu près les mêmes dans tous les cas étudiés.

Digitized by Google

que la température s'abaisse un peu par suite de l'ouverture de la serre ou de la tombée de la nuit ; mais, quand la température s'élève, cette eau de condensation s'évapore et les plantules restent à sec. Dans ces conditions, j'ai pourtant obtenu des résultats inespérés : en ajoutant au besoin à une ou deux reprises un peu de liquide aseptique dans mes tubes, j'ai pu prolonger la culture pendant près de huit mois après l'infestation ; les plantules ne paraissent pas du tout souffrir de ces conditions et elles prospèrent à peu près aussi bien sur le verre que sur la gélose. La figure 67 représente une petite plante cultivée ainsi sur la paroi d'un tube ; cette plante a été dessinée à la chambre claire, sept mois après l'infestation ; son développement est tout à fait normal, à ceci près que la jeune tige et les feuilles se sont recourbées vers la paroi exposée à la lumière. J'ai obtenu une vingtaine de plantules qui atteignaient ou dépassaient un peu cet état, c'est-à-dire qui étaient à peu près aussi avancées que les plantules de *Cypripedium* décrites précédemment.

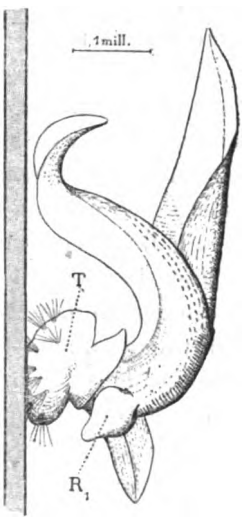


Fig. 67. – Plantule de *Cattleya* après 7 mois de culture sur la paroi de verre d'un tube ; T, tubercule embryonnaire ; R_1, racine.

Plus tard, j'ai pensé que les semis sur coton imbibé d'eau où de décoction de salep seraient dans de meilleures conditions et j'ai essayé cette méthode qui réussit si bien pour le *Cypripedium*. A ma grande surprise, les choses n'ont pas été mieux du tout : les sphérules que j'ai transportées sur du coton humide et infesté présentaient bien encore des débuts de germination, mais les plantules ne progressaient qu'avec une extrême lenteur, et leur développement était à peine appréciable au bout de plusieurs mois.

Ce fait m'ayant assez vivement étonné, j'ai repris l'expérience pour les diverses espèces de *Cattleya*, *Lælia*, *Brassavola* énumérées plus haut. Les résultats ont été uniformes : sur le coton imbibé les sphérules se formaient très bien, plus vite et mieux même que sur les milieux gélosés ; quand l'endophyte était introduit dans ces

Digitized by Google

cultures, les sphérules s'infestaient régulièrement, mais, même après quatre ou cinq mois, elles ne prenaient qu'un développement presque insignifiant. J'en suis revenu à mon premier dispositif et les cultures ont réussi.

En somme, dans mes tubes de culture, les *Cattleya* acceptaient volontiers la vie aérienne, tandis que le *Cypripedium* prospérait sur un milieu continuellement imbibé. Il y a là une différence d'aptitudes remarquable que je ne me charge pas d'expliquer, mais on s'en étonnera moins si l'on songe qu'il s'agit, dans le premier cas, de plantes qui sont épiphytes dans la nature et, dans le second, d'une plante qui est terrestre. Même dans les conditions particulières de mes expériences, ces plantes manifestaient une préférence marquée pour un habitat ou un autre dès le début de leur vie. Quoiqu'il en soit, on voit par cet exemple que les difficultés de la germination des Orchidées ne sont pas d'une seule sorte. Chez le *Cattleya*, le début de la vie semble facile, les sphérules se forment régulièrement dans des conditions de vie variées et en milieu aseptique ; mais, quand l'état critique de sphérule est atteint, il faut au moins deux conditions nouvelles, l'épiphytisme et l'infestation, pour que le développement se poursuive. En dehors de ces conditions très particulières, la plante semble fatalement vouée à une mort précoce.

L'existence de deux phases si nettement distinctes au début de la vie donne un intérêt tout spécial à l'étude des phénomènes morphologiques du développement. Ces phénomèmes sont bien comparables dans l'ensemble à ceux que montrait le *Cypripedium* ; mais cependant, ils se présentent chez le *Cattleya* dans des conditions qui feront comprendre plus clairement le mode d'action de l'endophyte sur la plante.

Formation des Sphérules en milieu aseptique

La graine mûre (I, fig. 68), renferme, sous son tégument membraneux transparent, un embryon qui a la forme d'un ellipsoïde allongé dont le plus grand diamètre mesure 200 à 250 μ ; à l'une des extrémités du grand axe de l'embryon, que je désignerai par la suite comme extrémité inférieure des plantules, s'attache un suspenseur bien différencié qui fait saillie hors du tégument par l'ou-

Digitized by Google

verture micropylaire ; toutes les cellules de l'embryon sont à peu près de même taille et paraissent semblables.

Les sphérules, obtenues en cultures aseptiques, résultent de l'accroissement de l'embryon qui passe de la forme allongée à une forme sensiblement sphérique, en distendant le tégument de la graine presque jusqu'à le rompre. L'examen des jeunes sphérules (II, fig 68) montre que l'accroissement ne s'est pas fait par les

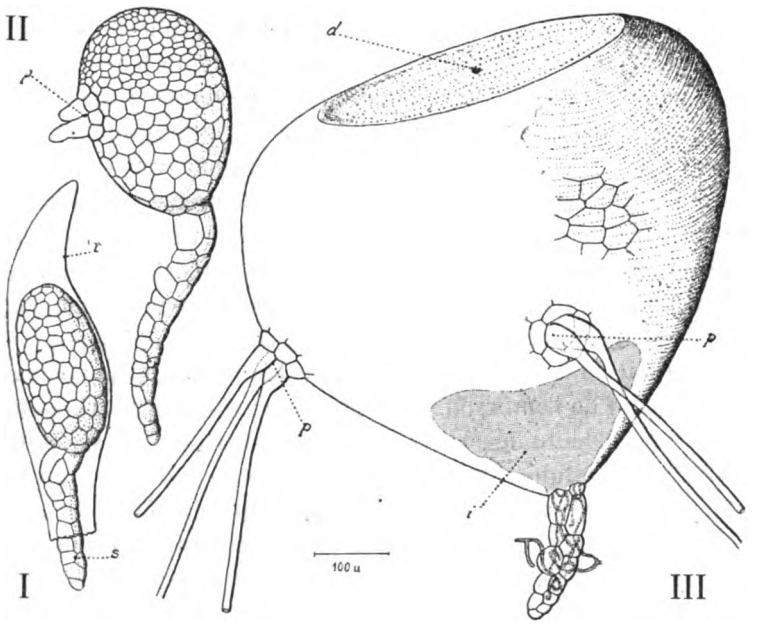


Fig. 68. — Germination du *Cattleya*. — I. Graine ; *t*, contour apparent du tégument ; *s*, suspenseur. — II. Sphérule isolée du tégument, trois mois après le semis aseptique ; *p*, papille pilifère. — III. Plantule provenant d'une sphérule semblable, 14 jours après le début de l'infestation ; les hyphes ont pénétré le suspenseur et s'étendent dans la région infestée *i* supposée vue par transparence ; les papilles *p*, *p* ont développé leurs poils ; quelques cellules épidermiques sont dessinées en haut et à droite ; *d*, dépression correspondant au sommet végétatif.

mêmes moyens pour toutes leurs parties : tandis que l'hémisphère supérieure est formée de petites cellules méristématiques et doit surtout son accroissement à une multiplication cellulaire active, l'hémisphère inférieure au contraire, formée de cellules plus grandes, doit son accroissement plutôt à la croissance individuelle des

Digitized by Google

cellules qu'à leur multiplication, bien qu'on puisse observer là aussi quelques cloisonnements. Des papilles pilifères périphériques se forment de bonne heure à la partie supérieure de cette hémisphère à grandes cellules : une dizaine de cellules épidermiques formant un petit groupe à contour circulaire se cloisonnent tangentiellement, puis les cellules externes ainsi isolées s'accroissent en formant une saillie bien visible à la surface de la sphérule, enfin, les cellules centrales du groupe s'allongent en poils qui restent très courts, comme l'indique la figure 68 (*p*, II). Les sphérules verdissent dès le début de la culture dans presque toute leur masse, le suspenseur et la partie de l'embryon qui y confine restant seuls incolores. A des états comparables à celui représenté dans la figure 68 (II), et surtout à des états un peu plus avancés (fig. 69), j'ai vu souvent des stomates parfaitement différenciés au voisinage du pôle supérieur. Pendant que ces phénomènes se sont produits, le suspenseur n'a pas subi de modifications importantes ; on voit seulement quelquefois deux ou trois cellules de sa partie moyenne se renfler et faire légèrement saillie.

La formation des sphérules n'est donc pas un simple phénomène de gonflement de l'embryon par imbibition ; elle marque bien une première période du développement pendant laquelle il y a multiplication des cellules, différenciation histologique et, dans une certaine mesure, croissance. Au début, ces phénomènes du développement se succèdent d'une façon régulière et rapide : les embryons verdissaient déjà dans les tubes où je séparais les graines sur de la gélose humide, pour faire les semis aseptiques ; dans les meilleures conditions, on peut obtenir dès la fin du premier mois des sphérules presque aussi avancées que celle de la figure 68 (II).

A partir du moment ou cet état est atteint, les sphérules peuvent grossir encore ; il peut se former de nouvelles papilles pilifères et de nouveaux stomates, mais on ne voit se produire aucun phénomène de développement qui soit d'une nature nouvelle. J'ai représenté dans la figure 69 la plus grosse des sphérules que j'ai observées ; au moment où j'en ai pris le croquis, elle était brunie et morte après cinq mois de culture sur la paroi d'un tube humide. Cette sphérule atteignait un millimètre, elle s'était assez considérablement accrue dans sa zone moyenne où s'était formé un bourrelet saillant couvert de papilles sur sa moitié inférieure ; l'hémisphère

Digitized by Google

supérieure s'était relativement moins accrue, elle portait de nombreux stomates mais ne montrait aucune ébauche foliaire. Sur une autre sphérule, cultivée dans les mêmes conditions et qui avait le même âge et la même forme générale mais seulement 650 μ de diamètre, il existait autour du pôle supérieur un bourrelet semi-circulaire portant de nombreux stomates et entourant une région à cellules plus petites. J'ai malheureusement perdu par accident cette sphérule en l'enrobant dans la paraffine, mais, d'après l'examen préliminaire que j'en avais fait, il me semble qu'il s'agissait d'une ébauche foliaire entourant un sommet végétatif localisé. Ce sont là des cas exceptionnels ; très généralement les sphérules meurent sans avoir dépassé un diamètre de 500 à 600 μ et sans avoir différencié de feuille.

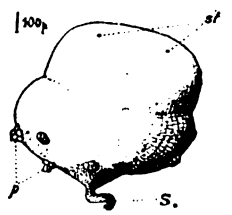


Fig. 69. — Sphérule de *Cattleya* ayant pris en culture aseptique un développement exceptionnel. *S*, suspenseur ; *p*, papilles ; *st*, stomates.

La mort des sphérules se produit d'une manière progressive ; c'est d'abord le suspenseur qui se dessèche en se déformant plus ou moins ; puis toute l'hémisphère inférieure, qui porte les papilles, brunit ; pendant plusieurs semaines encore l'hémisphère supérieure reste verte et l'on peut parfois obtenir le développement des sphérules à cet état par l'action de l'endophyte ; mais, à la fin, les cellules vertes de cette partie supérieure brunissent à leur tour ; tous les tissus sont morts à ce moment et aucun développement n'est plus possible.

Cet arrêt fatal du développement est mieux marqué peut-être par un fait que par tous les autres : *les poils, qui ont commencé à se différencier, ne s'allongent jamais tant que les sphérules restent en cultures aseptiques*. Ce fait est assez facile à constater pour que j'en puisse affirmer *l'absolue généralité* : quand les jeunes poils ont atteint l'état de développement que représente la figure 68 (*p*, II), ils cessent brusquement de s'accroître ; de nouvelles papilles peuvent bien se former ensuite sur les sphérules, mais, pour aucune, les poils ne s'allongent davantage, ils restent dans le même état pendant le temps de plusieurs mois où l'on peut prolonger la culture

Digitized by Google

des sphérules et jusqu'au moment de leur mort (1). *En l'absence de l'endophyte, la différenciation des poils est possible, mais leur croissance ne l'est pas.*

Développement après l'infestation

Les conséquences de l'infestation s'observent avec la plus grande netteté quand on introduit l'endophyte dans les tubes de culture où se trouvent de jeunes sphérules à l'état moyen de développement qu'indique la figure 68 (II). Je m'occupe d'abord uniquement de ce cas.

Le champignon pénètre par le suspenseur et jamais par d'autres points ; en général les cellules de la partie moyenne du suspenseur, parfois gonflées, sont les premières infestées. Les hyphes traversent directement la paroi de ces cellules sans paraître éprouver de difficultés au passage ; de là, quelques filaments peuvent s'étendre un peu vers l'extrémité libre du suspenseur, sans atteindre cette extrémité, mais la croissance du mycélium se fait surtout vers l'embryon dont la base est envahie en quelques jours, à l'exception des cellules épidermiques, toujours respectées (*i*, fig. 68, III). Dès que le pôle inférieur est ainsi atteint, c'est-à-dire quatre ou cinq jours après la pénétration des hyphes dans le suspenseur, il devient manifeste que la sphérule, dont l'état était jusque là sensiblement stationnaire, prend un développement rapide : une *seconde période de l'évolution* commence.

Cette seconde période du développement débute par *une véritable crise de croissance, qui est la conséquence immédiate et manifeste de l'infestation.* Presque toutes les cellules de la sphérule subissent cette crise à la fois et il en résulte un changement général de la forme qui est des mieux marqués dès la fin de la seconde semaine après l'infestation (fig. 68, II et III). Dans l'ensemble, la sphérule prend la forme conique, « en toupie », caractéristique des germinations d'Orchidées en général, mais plus accentuée dans ce cas que dans aucun autre de ceux que je connais ; voyons par suite de quels phénomènes cette forme est atteinte.

(1) Pour des sphérules provenant d'autres graines (*Brassavola fragrans* × *Lælia-Cattleya Ascanio*) cultivées sur du coton imbibé pendant quatre mois, j'ai vu exceptionnellement des poils atteignant 100 à 150 μ ; ces poils finissaient aussi par mourir en brunissant, sans s'être allongés davantage.

Digitized by Google

Les cellules même que le champignon pénètre, au pôle inférieur de la sphérule, ne se modifient pas : la région infestée de la plantule qui n'a pas pris d'accroissement notable, forme la pointe du cône où le suspenseur reste attaché. Au contraire, en avant de la région infestée, toutes les cellules de l'hémisphère inférieure s'accroissent et il en résulte un élargissement général de cette partie du corps. Pour l'hémisphère supérieure (supposée orientée comme elle l'est sur la figure 68), l'accroissement est plus important en largeur qu'en hauteur ; cela tient à ce que les cellules situées autour du grand axe vertical continuent à se multiplier sans s'accroître individuellement d'une façon notable ; ce massif à peu près cylindrique, de cellules qui restent petites formera le méristème terminal exactement limité de la plantule (*m*, fig. 70). Les autres cellules de l'hémisphère supérieure, qui forment une sorte d'anneau autour de ce massif méristématique, s'accroissent considérablement : en quelques jours ces cellules, qui avaient un diamètre moyen de 15 μ, arrivent à mesurer dans leur plus grande dimension 50 à 70 μ ; c'est ce qu'on voit facilement par l'examen des coupes et ce qu'on constatera aussi bien par l'examen des croquis II et III (fig. 68) où j'ai figuré la taille des cellules épidermiques de l'hémisphère supérieure avant et après l'infestation. Par suite de cette croissance rapide des cellules situées sur tout le pourtour du massif méristématique axial, il se forme un bourrelet saillant (*b*, fig. 70), qui constitue la partie supérieure élargie de la toupie ; vers le bas ce bourrelet est mal individualisé, il se raccorde par sa surface externe avec la surface du cône inférieur, au niveau des papilles ; à la partie supérieure il limite et entoure une dépression

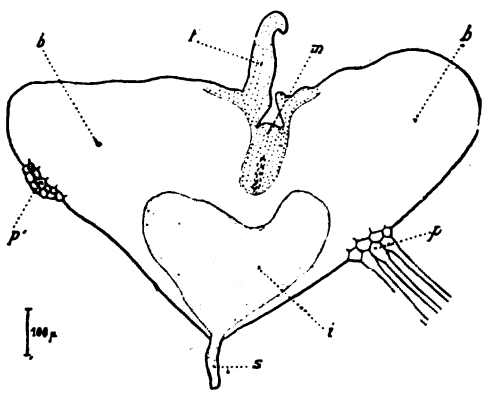


Fig. 70. — Coupe longitudinale d'une plantule de *Cattleya*. *S*, suspenseur ; *p*, papille à poils développés ; *p'*, jeune papille ; *f*, première feuille ; *i*, région infestée ; *m*, région à petites cellules méristématiques ; *b*, *b*, coupe du bourrelet circulaire formé par des cellules anormalement accrues.

Digitized by Google

circulaire au fond de laquelle se trouve l'affleurement superficiel du méristème terminal (*d*, fig. 68, III).

Il va sans dire que des modifications générales de cette importance ne s'accomplissent pas sans qu'il y ait quelques recloisonnements des cellules ; on observe de ces cloisonnements un peu partout dans les tissus qui s'accroissent et surtout dans la région supérieure du corps qui s'élargit le plus ; mais c'est bien cependant la croissance individuelle des cellules qui est le phénomène dominant. Un cas particulier de cette croissance cellulaire consécutive à l'infestation me reste à signaler, qui est le plus frappant de tous : *les poils absorbants différenciés sur les sphérules, mais dont la croissance était tout à fait arrêtée, commencent à s'allonger dès les premiers jours après l'infestation, bien avant que l'endophyte arrive à leur niveau* (*p*, fig. 68, III). L'examen direct des sphérules cultivées sur la paroi de verre des tubes de culture démontre la constance et la régularité de ce phénomène : dès que l'endophyte a pénétré le suspenseur, on voit partir de chaque papille un bouquet de poils rigides et turgescents qui se dressent d'abord librement dans l'air et s'accroissent visiblement de jour en jour. Toujours ces poils jeunes sont indemnes d'infestation, même quand ils arrivent au contact du verre et des hyphes de l'endophyte ; ici encore, on ne trouve de mycélium qu'à des époques tardives, dans des poils âgés et flétris.

On a bien vu déjà qu'un phénomène de croissance se produisait après l'infestation des graines du *Cypripedium* ; mais, dans ce cas, tous les phénomènes du développement débutaient presque au même moment et progressaient du même pas. Chez le *Cattleya*, au contraire, les divers phénomènes du développement se séparent pour ainsi dire les uns des autres et la conséquence de l'infestation se laisse plus clairement discerner : dans la première période de de vie, en milieu aseptique, les cellules du corps peuvent se multiplier et se différencier histologiquement, mais leur croissance se limite bientôt ; *c'est spécialement en provoquant la croissance des cellules que l'endophyte agit.* Cette conclusion s'impose et entraîne quelques réflexions.

Il est aujourd'hui classique d'admettre que le phénomène de croissance des cellules est en quelque mesure indépendant des autres phénomènes de l'évolution cellulaire, de la multiplication

Digitized by Google

ou de la différenciation histologique en particulier ; envisagé isolément, ce phénomène de croissance dépend presque uniquement d'une absorption d'eau par la cellule qui s'accroît (1). Si l'on cherche donc à comprendre quelle variation des conditions physiologiques correspond à la crise de croissance qui suit l'infestation, il semble légitime de conclure que *l'endophyte agit sur la plante en la rendant capable d'absorber l'eau.* On revient ainsi à l'idée classique qui attribue aux champignons des plantes à mycorhizes un rôle utile dans l'absorption ; mais il apparaît que l'endophyte sert d'abord spécialement à l'absorption de l'eau plutôt qu'à celle d'autres aliments ; il apparaît aussi que cette absorption d'eau dépend d'un mécanisme un peu plus compliqué qu'on ne l'admet communément. En effet, le champignon n'a pas un rôle direct dans l'absorption de l'eau : *l'endophyte ne remplace pas les poils absorbants, mais il les fait pousser, les cellules du corps qu'il rend capables d'absorption et de croissance sont justement les cellules qu'il n'atteint pas.* L'infestation a donc bien une *action à distance,* comme je l'ai soutenu, avec insistance, dès mes premières études sur ce sujet.

Les phénomènes de développement du *Cattleya* qui se produisent après la crise de croissance sont comparables, d'une manière générale, aux phénomènes de développement du *Cypripedium* dans la seconde et la troisième période de sa vie ; je renverrai aux figures 70 et 67, sans m'attarder à une longue description. Ici encore on peut distinguer une seconde période, d'une durée de quatre à cinq mois, pendant laquelle des feuilles successives se forment sans que la tige s'allonge (fig. 70); et l'on peut faire commencer une troisième période au moment où la tige s'allonge et où la première racine apparaît (fig. 67).

Il faut noter cependant que la réaçtion à l'infestation paraît plus énergique chez le *Cattleya* que chez le *Cypripedium.* L'endophyte s'étend relativement peu et il est de très bonne heure détruit dans la plupart des cellules : quand on examine des coupes en série de plantules dans leur seconde période de vie, il n'est pas rare qu'on ne trouve dans plusieurs coupes successives que des cellules à pelotons en dégénérescence et aucune cellule à mycélium en bon état ;

(1) On trouvera en particulier dans le traité de Davenport (*Experimental morphology*, Part II, New-York 1899) un grand nombre de documents relatifs au phénomène de croissance, dans le sens où je l'envisage ici.

Digitized by Google

les rares cellules qui contiennent encore du mycélium vivant sont localisées dans les tissus sous-épidermiques au pourtour de la région infestée.

L'arrêt presque complet de la croissance en longueur des plantules est aussi mieux marqué que chez le *Cypripedium :* la forme en toupie s'exagère de plus en plus au cours de la seconde période, le méristème terminal finit par se trouver au fond d'une invagination assez profonde, tandis que le bourrelet circulaire, formé par les tissus indemnes qui entourent le massif de méristème axial, s'accroît encore et forme à sa partie inférieure de nouvelles papilles pilifères (*p'*, fig. 70). Les plantules prennent, en définitive, la forme d'un disque épais qui porte les restes du suspenseur au centre de sa face inférieure couverte de papilles et le bouquet des jeunes feuilles au centre de la face opposée. Ce disque est alors vert dans toutes ses parties, sauf dans sa région inférieure infestée.

Quand je parle ici de cône, de toupie ou de disque, j'ai en vue de donner les caractéristiques essentielles de la forme générale et non de définir des formes parfaitement précises. La forme en toupie est très régulière au début de la seconde période, mais, par la suite, la croissance ne se fait pas toujours également en tous les points ; quand on atteint des formes discoïdes, la surface du corps est souvent irrégulièrement mamelonnée. Aussi bien par ces irrégularités de forme échappant à toute loi que par la croissance exagérée de leurs cellules, ces petites plantes méritent tout à fait d'être rapprochées des organes végétaux auxquels on applique le nom de tubercules (T fig. 67). L'expression de *tubercule embryonnaire,* que Treub a employée pour désigner des formes analogues chez les plantules infestées de Lycopodes (1) et que j'ai appliquée déjà aux plantules de *Cypripedium,* convient plus parfaitement encore aux plantules de *Cattlèya.*

Les phénomènes du début de la seconde période sont moins réguliers quand on infeste des sphérules qui ont vieilli en culture aseptique, au lieu de prendre des sphérules en bon état et d'un développement moyen. J'ai eu quelques germinations de ces sphérules âgées ; les plantes qu'elles m'ont données finissaient par reprendre un aspect normal, mais progressaient très péniblement

(1) Treub, Etudes sur les Lycopodiacées. *Ann. du Jardin bot. de Buitenzorg.* Vol. IV, V, VII, VIII ; 1884-1890.

Digitized by Google

au début. Les papilles formées depuis longtemps sur ces vieilles sphérules ne développent pas leurs poils ; ce sont des papilles nouvelles, formées en avant des anciennes, qui donnent les poils absorbants. La sortie de ces poils est alors plus tardive et peut se faire attendre un ou deux mois. L'infestation, quand elle est ainsi tardive, se fait encore par le suspenseur, mais on voit aussi des hyphes dans les cellules des papilles à poils avortés ; ces papilles constituent une porte d'entrée secondaire pour l'endophyte.

J'ajouterai enfin que l'infestation des graines est possible avant la formation des sphérules : quand on introduit l'endophyte dans des semis qui viennent d'être faits, au moment où les embryons sont seulement verdis et à peine gonflés, les hyphes pénètrent dans le suspenseur dès qu'ils l'atteignent. L'embryon prend bientôt la forme en toupie par suite d'une croissance rapide des cellules de sa partie supérieure, mais les poils se forment plus tard. A ceci près que la plante verdit de suite, le début du développement est alors très exactement comparable à celui du *Cypripedium* ; la formation du tubercule embryonnaire commence avant la sortie des poils ; la crise de croissance existe encore, comme elle existe d'ailleurs pour le *Cypripedium*, mais elle se manifeste au début avec un peu moins d'évidence (1).

3° **Bletia hyacinthina** (Pl. 18)

Le *Bletia hyacinthina* est une Orchidée spécifiquement voisine des *Cattleya*. J'ai dit quelques mots de la germination de cette espèce

(1) On voit donc que, si toutes les plantules se ressemblent dans la suite, elles présentent au début des phénomènes de développement assez variables suivant que l'infestation se fait plus ou moins tôt. La méthode des cultures expérimentales permet de distinguer les divers cas possibles ; mais, dans les semis faits en serre, où l'infestation est laissée au hasard, tous ces cas se présentent souvent pour les plantules d'un même pot. On le verra facilement si l'on veut se reporter à la description que j'ai donnée, dans mes *Études sur la Tubérisation*, de plantules de *Lælia*, étudiées sept mois après le semis des graines en serre. J'avais trouvé dans ce semis de jeunes plantules infestées, sans papilles ni poils (comme celle que j'avais représentée dans la figure 14), qui provenaient assurément de graines restées dans des régions sèches de la culture et infestées avant leur différenciation en sphérules. J'avais vu d'autre part des plantules à papilles avortées et infestées (dont une était représentée dans la figure 15), provenant sans doute de sphérules tardivement atteintes par l'endophyte. J'avais observé enfin la poussée des poils précoce ou tardive ; mais l'enchaînement et la signification précise de ces faits m'avaient naturellement échappé.

Digitized by Google

dans mes *Etudes sur la tubérisation* : j'avais observé une infestation régulière de jeunes plantules d'un semis horticole, j'avais vu aussi des embryons de graines semées aseptiquement sur des tranches de carotte se gonfler et accumuler de l'amidon. Cette transformation en milieu aseptique, dans des conditions de culture défavorables, était exceptionnelle et frappante ; la constatation que j'en avais faite m'engagea à reprendre des expériences sur le *Bletia* dans de meilleures conditions.

Avec des capsules que le professeur Pirotta m'avait envoyées de Rome en 1902, je fis des semis, en tubes stérilisés, sur des plaques de porcelaine poreuse imbibées du liquide nutritif salin de Detmer pris à des états divers de dilution. Dans la plupart des tubes les graines donnèrent de petites plantules ; malheureusement toutes les cultures étaient contaminées de moisissures ou de bactéries banales. Je ne pus donc pas considérer l'expérience comme satisfaisante, mais j'eus dès lors la conviction que le *Bletia* pouvait prendre un développement assez considérable en l'absence d'endophyte. C'est ce que les expériences dont il sera question ici ont définitivement montré.

Par suite de cette possibilité d'un développement relativement important en milieu aseptique, l'étude du *Bletia* présente un intérêt de premier ordre pour la recherche des rapports entre l'infestation et le développement.

D'une part, en effet, on pourra comparer le développement de cette Orchidée exceptionnelle à celui des plantes de la même famille incapables de vivre sans être infestées, en particulier, à celui de plantes spécifiquement voisines comme les *Cattleya*. D'autre part, on pourra comparer directement des plantules de *Bletia* développées aseptiquement à des plantules cultivées avec l'endophyte. Ces comparaisons seront faites ici, mais la seconde au moins s'est trouvée moins facile à faire que je n'espérais ; je n'ai pas pu poursuivre la culture aussi longtemps que je l'aurais voulu, je n'ai pas non plus varié les conditions de cette culture comme il serait sans doute très instructif de le faire. On voudra donc bien considérer les résultats obtenus comme des données préliminaires sur une étude à poursuivre ; ces données se sont pourtant présentées avec assez de certitude pour que je ne veuille pas passer sous silence un cas dont l'étude est particulièrement suggestive.

Digitized by Google

Conditions des Expériences

A l'automne de 1903 j'obtins une dizaine de fruits sur une plante que j'avais cultivée moi-même en serre ; je pus récolter les capsules au moment le plus favorable, un peu avant leur déhiscence, et faire des semis aseptiques en toute sûreté. J'ai fait ces semis sur des plaques de coton imbibées de la décoction de salep ; les plantules du *Bletia*, qui est une Orchidée terrestre, ont prospéré parfaitement dans ces conditions. Les tubes de culture ont été tenus dans la serre à une température moyenne de 25 degrés ; je les ai laissés à une bonne lumière diffuse, mais toujours abrités du soleil par des vitres blanchies. J'avais préparé au début cinquante tubes de culture ; dans chaque tube il se développa en général plus d'une douzaine de plantules ; *c'est donc sur plus de six cents plantes que l'expérience a porté.* Trente tubes furent gardés aseptiques, les vingt autres furent contaminés par l'endophyte et comparés aux premiers.

J'ai poursuivi ces cultures comparatives pendant cinq mois et demi. Au bout de ce temps les plantules étaient bien développées, et, dans ces semis relativement serrés, elles commençaient à souffrir ; je voulus les transporter une à une dans des tubes nouveaux, mais il était difficile de les prendre sans les abîmer sur les plaques de coton auxquelles elles s'attachaient plus ou moins par leurs poils absorbants ; beaucoup de plantules périrent à la suite de ce transport ; plusieurs tubes où j'avais dû ajouter du liquide se trouvèrent aussi contaminés par des microorganismes accidentels. Je dus donc renoncer à continuer la culture.

Les résultats de l'expérience ainsi conduite ont été d'une régularité parfaite : quand les différences se sont montrées entre les semis aseptiques et les semis contaminés elles étaient les mêmes pour *toutes* les plantules cultivées dans l'une ou l'autre condition. Les tubes de culture photographiés dans la Planche 18 ont pu être pris presque au hasard parmi les tubes de l'une ou l'autre série de semis ; le contraste était tout aussi évident pour d'autres tubes que pour ceux-là. Dans les figures 71 et 73 j'ai représenté en A et A′ des plantes prises aux mêmes époques dans des semis aseptiques ; ces plantes étaient les plus dissemblables que j'ai trouvées à ces deux

Digitized by Google

moments dans l'ensemble de mes cultures, elles diffèrent cependant d'une façon presque insignifiante ; les différences constatables à chaque moment entre les plantules des semis contaminés n'étaient pas plus importantes. Comme les différences entre plantes aseptiques et plantes contaminées ont porté sur le degré et non sur le mode du développement, il est utile d'insister sur cette marche régulière de l'expérience.

Les plantules des cultures infestées étaient exactement comparables à celles qu'on obtient dans les semis horticoles ; j'ai pu m'en assurer puisque j'avais étudié autrefois la germination du *Bletia* en serre et gardé des dessins de plantules à divers âges. Dans mes expériences le développement était cependant plus rapide : les plantules de mes cultures, après cinq mois et demi, étaient sensiblement aussi avancées que celles récoltées dix mois après le semis en serre ; vers la fin seulement les plantules s'étiolaient un peu dans mes tubes. Les conditions de mes expériences devront donc être considérées comme très voisines des conditions normales de vie de la plante.

Développement en milieu aseptique

Les graines du Bletia, *bien qu'elles soient encore d'une constitution assez rudimentaire, sont cependant mieux développées que celles de la plupart des Orchidées.* Comme à l'ordinaire, le tégument de la graine est réduit à une membrane transparente où les parois de contact épaissies des cellules desséchées dessinent les mailles d'un réseau ; comme à l'ordinaire aussi, il n'existe pas d'albumen ; mais l'embryon est plus volumineux et mieux différencié qu'il ne l'est, par exemple, chez le *Cattleya* ou le *Cypripedium*. Cet embryon a une forme ovoïde allongée, il mesure de 450 à 500 μ de longueur, à peu près le double de la longueur de l'embryon dans les cas que je viens de rappeler, à son extrémité dirigée vers le micropyle, il porte encore la trace d'insertion et quelquefois les restes informes d'un suspenseur qui s'est desséché avant la complète maturité des graines ; à l'extrémité opposée de l'embryon on voit un petit bourrelet saillant, semi circulaire, ébauche d'une feuille qui est l'homologue du cotylédon terminal des plantules monocotylées. Ces embryons de *Bletia*, différenciés ainsi en un axe embryonnaire et un cotylédon

Digitized by Google

terminal rudimentaire, sont assez semblables à ceux du *Sobralia macrantha* que Treub a étudiés (1) et qui étaient jusqu'à présent, à ce que je crois, les embryons d'Orchidées les mieux différenciés qu'on connût. Cette analogie n'a rien qui puisse surprendre, puisque les genres *Sobralia* et *Bletia* sont spécifiquement peu éloignés. Mais, d'un autre côté, la différence qui existe entre les embryons de ces plantes et ceux de *Cattleya*, qui est aussi un genre assez voisin, ne mérite que mieux d'être remarquée : à ceci près que, dans le fruit, les embryons du *Bletia* n'ont pas encore différencié de papilles, ils atteignent ou dépassent dejà par leur taille ou par leur degré de différenciation l'état des sphérules de *Cattleya* obtenues par la culture en milieu aseptique.

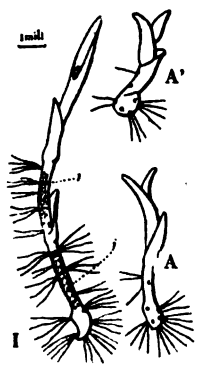


Fig. 71. — Plantules de *Bletia* âgées de 3 mois 1/2. A, A', de cultures aseptiques. I, d'une culture avec l'endophyte; *i*, *i*, régions infestées.

Ces graines, qui diffèrent ainsi des autres graines d'Orchidées par leur développement plus avancé dans le fruit, en diffèrent encore par leur germination régulière et facile pendant les premiers mois de culture aseptique. Dès les premiers jours, l'embryon s'accroît en déchirant le tégument. De nombreuses papilles pilifères se forment à sa surface, qui sont tout à fait comparables à celles des sphérules de *Cattleya*, si ce n'est que chacune donne naissance à des poils plus nombreux. Aussitôt différenciés, les poils d'un certain nombre de ces papilles commencent à s'allonger d'une manière normale ; le plus souvent toutefois, il reste des papilles dont les poils ne s'allongent pas ; en même temps le cotylédon achève de se différencier et prend l'aspect d'une petite feuille verte. Dans la suite l'axe embryonnaire s'accroît au-dessous du cotylédon en formant un axe hypocotylé grêle et élancé portant aussi des papilles dont quelques poils s'allongent. Avant la fin du troisième mois, cette croissance de l'axe hypocotylé est terminée ; au-dessus du cotylédon la jeune tige est différenciée et porte deux feuilles vertes, mais les entre-nœuds sont encore très courts. Les plantules sont dès lors arrivées à peu près à l'état de celles représentées en A et A' dans la figure 71.

(1) *Notes sur l'embryogénie de quelques Orchidées*, Amsterdam. 1879.

Digitized by Google

A partir de ce moment, qui correspond comme on le verra à un stade critique de l'évolution, le développement devient plus lent et aussi un peu plus irrégulier : les entre-nœuds inférieurs de la tige s'allongent souvent d'une manière assez inégale, ils forment encore quelques papilles dont les poils s'accroissent rarement. Quand j'ai arrêté la culture après cinq mois et demi, la plupart des plantules n'avaient que trois feuilles déployées, au-dessus du cotylédon (A. fig. 73), quelques-unes avaient quatre feuilles (A' fig. 73) mais leur état de développement était exceptionnel. A ce moment les portions inférieures de la tige brunissaient en se desséchant ; les feuilles supérieures seules restaient vertes et en bon état. Cette mort progressive des tiges de bas en haut est un phénomène normal ; je l'ai observée aussi pour les semis infestés et elle se produit de même pour les plantules cultivées en serre ; il n'est donc pas impossible qu'on puisse poursuivre la culture de plantules aseptiques au-delà des stades extrêmes atteints dans mes expériences ; le ralentissement graduel du développement permet cependant de penser que la culture dans ces conditions ne pourrait jamais se poursuivre très loin.

En somme, bien qu'il ne se produise pas de radicule, ces premiers phénomènes de la germination rappellent de beaucoup plus près ceux que l'on observe chez les Monocotylédones en général que ceux qu'on voit chez d'autres Orchidées. Comparons en particulier le *Bletia* au *Cattleya : chez le* Bletia, *il y a au début de la vie une période de croissance normale, des poils absorbants poussent, la jeune tige prend la forme élancée par l'allongement de son axe hypocotylé* ; chez le *Cattleya* au contraire, la croissance était prématurément arrêtée en milieu aseptique, elle devenait exagérée et anormale après l'infestation comme en témoignait l'existence d'un tubercule embryonnaire. *Chez les plantules de* Bletia *aseptiques rien ne rappelle la formation du tubercule embryonnaire des plantules d'Orchidées infestées.*

L'examen comparatif de ces faits ramène forcément à la conclusion de mes *Etudes sur la tubérisation* ; il fournit un nouvel argument pour admettre qu'*il y a un rapport entre l'infestation et la tubérisation* chez les Orchidées. J'attendais en vérité de mes cultures de *Bletia* une preuve plus décisive encore du bien fondé de cette hypothèse : j'avais pensé que les plantules de cette Orchidée, capa-

Digitized by Google

ble de croissance normale en milieu aseptique, pourraient s'infester dans les cultures faites avec l'endophyte et qu'alors elles se tubériseraient. De ce côté le résultat de l'expérience n'a pas été conforme à mes prévisions, mais il n'a pas non plus été de nature à faire abandonner l'idée qui me guidait.

Immunité des jeunes Plantes

Pendant près de trois mois, les plantules des semis infestés se sont développées sensiblement de la même manière que les plantules des semis aseptiques ; mais, pendant ce temps aussi, ces plantules, vivant dans des cultures pures d'endophyte, ne se sont infestées que d'une façon insignifiante. Même en présence de l'endophyte il n'y a pas tubérisation, mais cela n'a rien de surprenant puisque les jeunes plantules du *Bletia*, au contraire de celles d'autres Orchidées, présentent au début de leur vie une *immunité* a peu près complète.

J'ai semé des graines de *Bletia* dans des tubes où l'endophy te avait été introduit quelques jours à l'avance ; dès le début les plantules vivaient sur du coton largement contaminé ; j'ai examiné avec soin plusieurs de ces plantules soit un mois, soit deux mois et demi après le semis, j'ai fait dans quelques-unes des coupes en série, et voici ce que j'ai observé. Dès les premiers jours quelques filaments pénètrent dans l'embryon, au voisinage de la cicatrice du suspenseur, mais cette infestation ne s'étend qu'extrêmement peu ; dès la fin du premier mois elle cesse tout à fait de progresser. A ce moment, on ne trouve dans les plantules que de rares cellules atteintes ; le noyau de ces cellules s'est à peine hypertrophié, les filaments ont été digérés avant même d'avoir formé des pelotons serrés, les corps de dégénérescence restent petits et peu nombreux. La figure 72 rend compte de ces particularités ; elle représente une coupe longitudinale passant par la région la plus infestée d'une plantule d'un mois ; dans ce croquis, dessiné très exactement à la chambre claire, les noyaux ont été figurés par leur contour apparent et les corps de dégénérescence par des masses noires. Si l'on compare cette figure soit à celles données, dans le présent mémoire, pour le *Cypripedium* ou pour le *Cattleya*, soit encore aux figures que j'ai données autrefois des plantules de *Neottia* ou d'Ophydées, on ne pourra manquer d'être frappé du contraste. Aussi bien par le

Digitized by Google

peu d'étendue de la région infestée que par la précocité de la digestion des hyphes intracellulaires, ces plantules de *Bletia* se séparent tout à fait des plantules d'Orchidées dont la germination m'est connue. Il n'y a d'ailleurs qu'un seul point de pénétration; même après deux mois et demi de culture, l'infestation de la région du suspenseur n'avait pas progressé et aucune infestation nouvelle ne s'était produite; les plantules étaient, en somme, complètement indemnes.

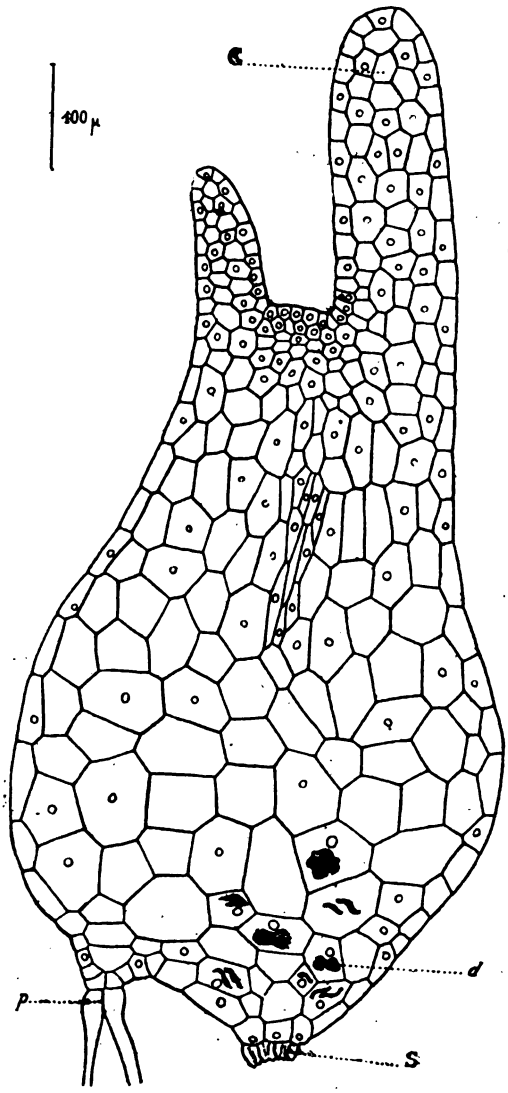


Fig. 72.—Coupe longitudinale dans une plantule de *Bletia* cultivée depuis un mois avec l'endophyte. C, cotylédon; *p*, papille pilifère; *d*, mycélium en dégénérescence.

Cette infestation fugace et restreinte n'entraîne pas de conséquences facilement appréciables : en suivant jour par jour les progrès de mes semis à la loupe, je n'avais pas vu de différences entre les semis aseptiques et les semis contaminés. Un examen plus attentif m'a montré cependant que cette infestation minime n'est pas absolument sans effets. J'ai dit plus

Digitized by Google

haut que les plantules des semis aseptiques différencient dès les premiers jours des papilles pilifères ; après deux mois de culture, on compte généralement une douzaine de ces papilles rien que sur l'axe embryonnaire ; quelques-unes ont alors développé leurs poils, mais très généralement, plus d'une moitié ne montrent encore que des poils rudimentaires (1) ; même après quatre ou cinq mois de culture, quand l'axe embryonnaire brunit et meurt, on y trouve encore des papilles n'ayant pas développé leurs poils. Il est au contraire de règle générale que toutes les papilles développent leurs poils chez les plantules des semis contaminés de bonne heure. En vérité, il s'agit là d'une différence de degré appréciable seulement par l'examen d'un grand nombre de plantules et faiblement marquée parfois : j'ai trouvé en effet quelques plantules de semis aseptiques dont la très grande majorité des papilles avaient des poils normalement accrus ; inversement j'ai vu encore quelquefois des papilles à poils rudimentaires sur l'axe embryonnaire des plantules infestées depuis plusieurs mois.

Le Stade critique d'Infestation

L'immunité naturelle des plantules n'a duré qu'un temps : vers la fin du troisième mois les jeunes plantes cultivées avec l'endophyte se sont infestées régulièrement et d'une façon importante. A partir de ce moment, leur développement est devenu nettement différent de celui des plantules gardées en semis aseptiques.

Je n'ai pas observé très exactement les débuts de cette infestation secondaire que rien ne me faisait prévoir. Des plantules de deux mois et demi, cultivées avec l'endophyte, étaient encore régulièrement indemnes et semblables aux plantules aseptiques du même âge ; des plantules de trois mois et six jours étaient déjà largement infestés et différaient très sensiblement des plantules aseptiques. C'est donc sans doute vers la fin du troisième mois que l'infestation se produit, elle s'étend largement dans l'espace de quelques jours et ses conséquences sur la marche du développement sont immédiates.

L'infestation se produit quand la croissance de l'axe hypocotylé

(1) Quelques-unes de ces papilles à poils rudimentaires sont représentées par des points sur les plantules A et A′ de la figure 71.

Digitized by Google

des plantules est à peu près terminée (à un état voisin de celui des plantules A et A', de la figure 71) ; c'est dans la partie moyenne de cet axe hypocotylé que l'endophyte pénètre et s'étend, la partie inférieure de la plantule qui correspond à l'axe embryonnaire, reste toujours indemne. Pour autant que j'ai pu le voir, n'ayant pas observé les débuts mêmes de l'infestation, l'endophyte pénètre toujours par les cellules basilaires de papilles qui portent des poils ayant terminé leur croissance ; jamais je n'ai vu de mycélium dans d'autres cellules épidermiques. Au reste les hyphes ne font que traverser ces cellules superficielles, ils gagnent de suite les assises corticales moyennes de l'axe hypocotylé où ils se développent abondamment. Par son extension et par ses caractères, cette infestation tardive diffère complètement de celle qui s'était produite au début de la vie : l'écorce de l'axe hypocotylé est de suite envahie dans toute sa longueur et sur tout son pourtour ; dans les cellules il se forme d'abord des pelotons serrés de mycélium d'un aspect tout à fait normal, et, plus tard, des masses de dégénérescence volumineuses et parfaitement caractérisées. Dans la suite les entre-nœuds supérieurs de la tige s'infestent successivement, mais chacun n'est atteint qu'à partir du moment où sa croissance est complètement terminée. J'ajouterai enfin que j'ai souvent vu, sur mes plantules les plus âgées, des poils envahis dans toute leur longueur et parfois même tout à fait remplis de spores en chapelets qui y formaient une grappe serrée ; mais cette infestation des poils paraît toujours être tardive.

Il existait donc pour les plantules de mes cultures un *stade critique* de développement, à partir duquel l'infestation devenait possible. Sans doute il convient de spécifier que les choses se sont passées ainsi *dans les conditions de vie réalisées par mes expériences* (1): l'immunité n'est pas, à l'ordinaire, une propriété absolue et il est

(1) Elles se passaient sans doute de même pour les plantules de semis horticole que j'ai examinées autrefois. Dans mes *Etudes sur la tubérisation*, j'ai noté que l'infestation « se faisait d'abord par la région du suspenseur et, secondairement, par la jeune tige couverte de poils ». J'avais bien vu que l'infestation primitive de la région du suspenseur était toujours très peu étendue : persuadé dès l'abord par les cas que je connaissais qu'elle devait exister, je l'avais recherchée avec soin et constatée seulement avec peine. Mais je me bornais à déduire de là, en quelques lignes, un rapprochement entre le *Bletia* et les autres Orchidées, sans insister sur les différences dont l'importance m'avait échappé.

Digitized by Google

possible qu'on puisse obtenir dans des conditions autres soit une infestation plus précoce, soit une immunité plus longtemps persistante. Mais je n'ai pas compris en temps utile l'intérêt qu'il y aurait à varier les conditions de l'expérience et je me borne à noter l'existence sûrement constatée d'un stade critique d'infestation dans des conditions de culture voisines des conditions naturelles de la vie.

Conséquences de l'Infestation

Des photographies de deux cultures de quatre mois, l'une aseptique (IV), l'autre infestée (V), ont été reproduites dans la Planche 18 et permettront de constater la différence très nette entre les semis faits dans ces deux conditions, une fois que le stade critique d'infestation est dépassé. Les figures 71 et 73 rendront compte de cette différence par le détail; on verra en particulier par la figure 71 que l'accélération du développement des plantules se manifeste avec une grande évidence très tôt après l'époque d'infestation. On trouve ici un exemple particulièrement net d'un fait qui paraît général : *l'endophyte n'agit sur la plante qu'à partir du moment où il l'a pénétrée;* l'accélération du développement des plantules devient manifeste dès que leurs tissus sont envahis; aucune différence bien appréciable ne se montrait auparavant, bien que les plantules aient vécu près de trois mois dans des cultures pures d'endophyte, c'est-à-dire dans un milieu limité où les produits de sécrétion de ce champignon peuvent et doivent s'accumuler.

Pour le *Bletia*, aussi nettement que pour le *Cattleya*, *l'action spéciale de l'endophyte est de provoquer la croissance des plantules*. Si l'on compare la plantule I aux plantules A et A' (fig. 71), on verra facilement que ces plantules sont arrivées à peu près au même degré de différenciation, elles ont le même nombre de feuilles déployées, elles ont toutes formé à peu près en nombre égal des papilles pilifères; seulement les plantules aseptiques ont gardé des entre-nœuds courts et n'ont développé qu'un petit nombre de poils, tandis que, pour la plantule infestée, les entre-nœuds ont une croissance normale et les poils allongés sont beaucoup plus nombreux. Or, pour ces jeunes tiges, comme pour les tiges des végétaux en général, l'accroissement des entre-nœuds est dû essentiellement à la croissance des cellules et non à leur multiplication ; qu'il s'agisse

Digitized by Google

de l'allongement des entre-nœuds ou de celui des poils, *c'est toujours la croissance individuelle des cellules qui est activée par l'infestation.* Il faut noter de plus que l'endophyte, ici encore, *agit à distance*; les entre-nœuds dont la croissance est terminée sont les seuls qui s'infestent, les jeunes poils en voie de croissance ne renferment jamais de mycélium.

Naturellement c'est surtout au début qu'on peut clairement discerner que l'infestation agit sur la croissance et non sur les autres phénomènes du développement. La croissance est un phénomène spécial, en quelque mesure indépendant des autres, mais, si elle s'arrête ou se limite par trop, le développement envisagé dans son ensemble en est tôt ou tard affecté. Ainsi, l'on ne doit pas s'étonner qu'en définitive les plantules infestées puissent produire une racine (fig. 73), tandis que les plantules aseptiques en restent encore dépourvues, bien qu'elles aient un peu progressé. C'est sans doute par suite de l'arrêt de croissance, dont sont frappées d'abord les plantules non infestées, que la différenciation de leurs tissus ou de leurs organes est tardivement entravée ; rien ne porte à croire que l'infestation ait une action directe sur la différenciation des racines.

Fig. 73. — Plantules de *Bletia* âgées de 5 mois 1/2. A, A' de cultures aseptiques. I, d'une culture avec l'endophyte ; *b, b*, régions brunies ; *i, i*, régions infestées ; R, racine.

L'étude du *Bletia* amène donc à la même conclusion générale que l'étude du *Cattleya* ; il existe cependant entre ces deux cas une différence sur laquelle il convient d'insister : chez le *Bletia* c'est une croissance d'un mode normal, l'élongation de la tige, qui fait suite à l'infestation ; chez le *Cattleya* au contraire les sphérules infestées s'élargissaient en formant le tubercule embryonnaire, mais la plantule ne s'allongeait pas. Ce contraste tient à ce que le *Cattleya* et le *Bletia* s'infestent à des états de développement bien différents. La sphérule de *Cattleya* n'a encore ni bourgeon terminal ni tige, la différenciation même des membres de la plante, qui doit précéder leur croissance n'est pas ou est à peine commencée ; l'infestation

Digitized by Google

ne peut donc entraîner qu'une croissance prématurée et d'un mode anormal. Au contraire quand une plantule de *Bletia* s'infeste, les entre-nœuds de sa tige sont déjà différenciés, la plante a pour ainsi dire toute une réserve de cellules dont la croissance est arrêtée ; il est naturel que le premier effet de l'infestation porte sur ces cellules prêtes à s'accroître et que le mode normal du développement ne soit d'abord pas changé.

Si une croissance anormale, une tubérisation, doivent être entraînées par l'infestation, c'est seulement plus tard qu'on doit s'attendre à le constater, quand toutes les cellules des zones de croissances actuellement différenciés auront réagi et qu'il ne restera plus pour s'accroître que les tissus des membres incomplètement formés. En fait, au moment où j'ai interrompu mes expériences, les plantules infestées avaient le plus souvent leur tige brune et desséchée au-dessous de la racine ; d'après ce que j'avais vu autrefois en étudiant la germination en serre, ce phénomène est normal : le bourgeon terminal s'isole avec la racine et forme un petit bulbe qui produit de nouvelles racines adventives à sa base.

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

Digitized by Google

LA PASSIFLORE PARASITE

SUR LES RACINES DU FUSAIN

par M. E. PÉE-LABY

I

Les plantes phanérogames vivant en parasites se divisent en deux groupes : les vraies parasites et les demi-parasites.

Les Orobanchées appartiennent au premier groupe. Dépourvues d'organes verts, elles empruntent entièrement à la plante nourricière les substances nécessaires à leur développement.

Les Rhinantées font partie du deuxième. Les Mélampyres, les Rhinanthes, les Pédiculaires, les Euphraises, etc., possèdent, en effet, des feuilles vertes et peuvent puiser, en dehors de la plante support, une grande partie de leur nourriture. Dans certains cas même, elles se développent sans le secours d'une plante hospitalière.

C'est dans cette deuxième catégorie que je placerai, pour quelques instants, une plante d'ornement, la Passiflore (*Passiflora cœrulea)* qui, ordinairement, se développe au moyen de ses propres organes de nutrition, et que j'ai trouvée fixée par la base de la tige sur une racine ramifiée de Fusain (*Evonymus japonicus*).

Comme l'indique la photographie ci-jointe (fig. 74), la tige de la Passiflore s'était divisée dès la base en deux rameaux de longueur à peu près égale. Ces rameaux, raccourcis sur le cliché, avaient environ de 1 mètre 30 à 1 m. 40. Ils portaient des feuilles absolument semblables à ceux des autres pieds voisins, et rien dans le port et l'aspect extérieur ne les en différenciait.

Telle est la description de la partie aérienne.

En examinant la partie souterraine de cette Passiflore on constate que la base de la tige, sur une longueur de 4 à 5 centimètres, porte sur son pourtour un assez grand nombre de racines adven-

Digitized by Google

tives. Ces racines sont courtes, frêles, petites : leur longueur ne dépasse pas 6 centimètres, et leur diamètre est de 1 millimètre en moyenne.

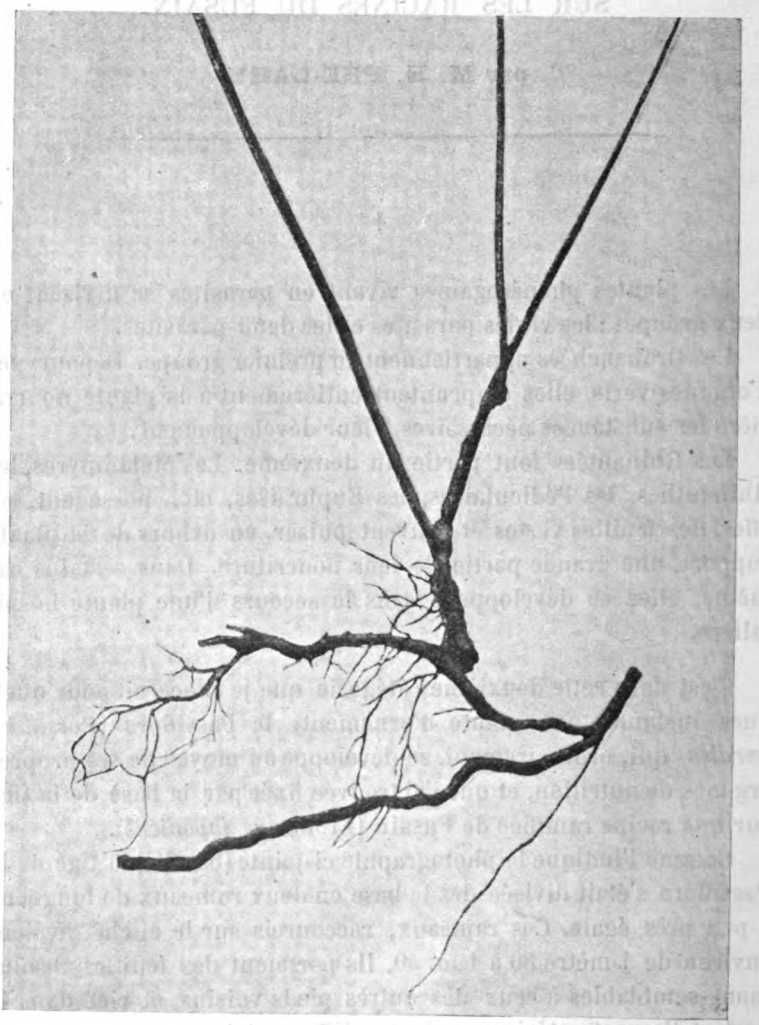


Fig. 74. — Passiflore parasite sur la racine du Fusain.

L'aspect seul de ces organes laisse supposer qu'ils sont incapables de nourrir la tige en question. Tout au plus, peuvent-ils

Digitized by Google

absorber dans le sol une petite quantité de l'eau nécessaire à la vie de la plante.

Au point de soudure avec la racine du Fusain, la tige de Passiflore présente un renflement assez marqué. Cet empâtement embrasse un tiers de la racine sur laquelle la Passiflore semble greffée. De cet empâtement se détache une racine adventive un peu plus grosse, il est vrai, mais qui ne peut constituer, même avec les précédentes, l'appareil radiculaire normal d'une Passiflore âgée de un an.

Il n'est pas douteux que cette nodosité est de nature caulinaire : elle s'est formée sur la tige et constitue la partie absorbante principale de la Passiflore. C'est par ce renflement qu'elle puise, dans la racine du Fusain, les matériaux qui lui sont nécessaires, comme le font les suçoirs des parasites en général et de l'Orobanche en particulier. C'est ce que je me suis proposé de vérifier par l'anatomie.

Avant de terminer cette description purement morphologique, j'ajouterai que cette Passiflore provenait d'une graine transportée par hasard au pied du Fusain en question. Non loin de là, se trouve un pied de Passiflore âgée de 6 ans qui fleurit et fructifie abondamment. D'autres Passiflores du même âge avaient poussé çà et là autour du Fusain ; arrachées en même temps, elles ne présentaient pas cette particularité.

II. — Partie anatomique.

Une coupe longitudinale médiane passant à la fois par la tige et la racine, permet d'apercevoir au faible grossissement :

1° Un étranglement situé au niveau de la soudure, faisant communiquer la racine avec la tige, ayant le 1/3 du renflement de la tige (fig. 75) ;

2° Dans l'axe de l'étranglement et du renflement, un tissu plus foncé, s'enfonçant dans la racine et s'y étalant en une sorte de lentille convexe de deux centimètres de longueur (fig. 76) ;

3° La partie corticale du renflement relativement très épaisse au niveau de la tige et de la racine.

Examiné au fort grossissement, le tissu plus foncé, axial, est constitué par des *cordons suceurs* très irréguliers et sinueux. Les éléments anatomiques qui les forment sont exclusivement des

Digitized by Google

cellules ponctuées à parois très épaisses et lignifiées, ayant une longueur 3 à 4 fois plus grande que la largeur. Elles se soudent les unes aux autres à leurs extrémités par une cloison très oblique.

Ces cellules à ponctuations simples sont en rapport avec le bois secondaire de la tige de Passiflore constitué par de grands vaisseaux aréolés, quelques fibres à parois épaisses. Mais c'est surtout avec les cellules des rayons médullaires que les cellules des cordons sont en contact. Les cordons suceurs, en effet, contournent ces rayons qu'ils pénètrent quelquefois. Ces cordons se ramifient et forment une sorte de réseau dont le centre des mailles est occupé, presque toujours, par des cellules des rayons médullaires.

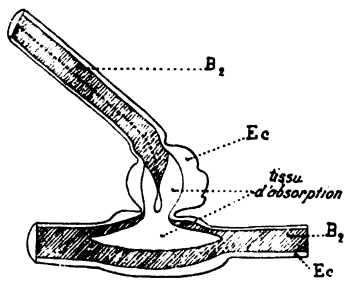


Fig. 75. — Coupe longitudinale et médiane de la tige de la Passiflore et de la racine du Fusain.

La direction générale de ces cordons est oblique et semble ses diriger vers l'extérieur de la tige en suivant les rayons médullaires.

Les rayons médullaires situés dans le renflement caulinaire ont une épaisseur de 8-10 cellules ; tandis que cette épaisseur n'est que de 4-5 cellules, dans la tige normale.

Arrivés dans la racine, ces cordons la pénètrent en suivant les rayons médullaires qui, on le sait, sont très nombreux. Ils les contournent et se dirigent obliquement, après s'être ramifiés à l'infini, pour constituer cette masse lenticulaire. Leurs extrémités sont en rapport, soit avec les petits vaisseaux très nombreux du bois

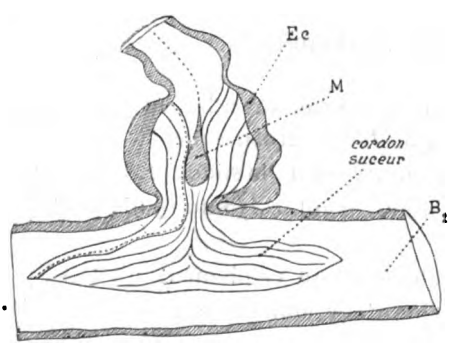


Fig. 76. — Direction générale des cordons suceurs dans les renflements de la tige et de la racine.

Digitized by Google

secondaire de la racine du Fusain, soit avec les cellules du parenchyme ligneux et des rayons médullaires, comme dans la tige d'ailleurs.

En résumé, si mes observations sont exactes, les renflements de la tige et de la racine (région de soudure), sont dus à des cordons suceurs traversant obliquement le bois de la tige et pénétrant dans celui de la racine ; ils paraissent intimement en rapport avec les cellules des rayons médullaires. La présence des cordons suceurs semble avoir provoqué la formation de nouveaux rayons médullaires, à épaisseur plus considérable, tant dans le renflement caulinaire que radiculaire.

Ce cas de parasitisme, tout à fait isolé et accidentel, peut, en raison de la structure des tissus de soudure, être rapproché de la *greffe* proprement dite. Les récentes formations secondaires libéro-ligneuses entourent, en effet, les cordons suceurs qui semblent avoir cessé de fonctionner. Le parasitisme de la Passiflore n'aura donc été que passager, et la tige portant déjà sur son bourrelet une première racine, ressemble fort à un greffon ordinaire en voie d'affranchissement.

Digitized by Google

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LES ORCHIDÉES

par M. Noël BERNARD *(fin)*.

(Planches 18 et 19)

IV

LES SEMIS HORTICOLES

Les relations suivies que j'ai eues depuis plusieurs années avec des amateurs ou des horticulteurs s'occupant d'Orchidées m'ont permis de ne pas rester tout à fait à l'écart des problèmes pratiques au progrès desquelles mes recherches peuvent servir. J'envisagerai ici la question des semis horticoles d'Orchidées, non pas avec l'espoir de résoudre d'un coup les nombreuses difficultés qu'elle présente, mais plutôt avec celui de classer ces difficultés et de répondre ainsi de mon mieux à des questions que m'ont souvent posées les praticiens.

Avant tout, je dois remercier les correspondants dont le concours m'a été précieux ; M. Magne et M. Denis, en particulier, m'ont envoyé, de Boulogne-sur-Seine ou de Balaruc-les-Bains, les matériaux dont j'avais besoin, sans se lasser des insuccès de mes expériences préliminaires ; ils ont bien voulu aussi diriger suivant mes conseils leurs essais de culture et me tenir au courant des résultats obtenus. Si l'on trouve ici des remarques utiles, c'est à ces collaborateurs dévoués, plus sans doute qu'à moi-même, qu'elles seront dues.

Multiplicité des conditions a réaliser

Il ne me semble pas douteux que la nécessité d'un champignon pour la germination des Orchidées soit une règle générale. J'ai démontré ici cette nécessité pour quelques cas, mais, si l'on veut

Digitized by Google

se reporter à mes observations antérieures, il apparaîtra que l'endophyte n'est pas moins indispensable à la germination du *Neottia Nidus-avis* ou des Ophrydées, par exemple, qu'à celle du *Cypripedium*. Si l'on ajoute à cela que les Orchidées forment une famille des plus homogènes, que toutes ces plantes ont des graines rudimentaires, que leur infestation à l'état adulte est un phénomène normal, on ne pourra guère contester la légitimité d'une généralisation. Même s'il arrive, dans des cas extrêmes, comme ceux du *Cattleya* ou du *Bletia*, qu'un début de développement soit possible sans endophyte, il n'en restera pas moins vrai que l'infestation est nécessaire tôt ou tard à la vie. Au point de vue pratique, on aboutit à une règle unique : *pour obtenir le développement d'une Orchidée à partir de la graine, il faut faire le semis dans un sol infesté.*

Cette condition est nécessaire, mais elle n'est pas suffisante : pour faire germer une graine d'Orchidée, il faut qu'on réalise non seulement l'infestation mais encore des conditions convenables et souvent fort particulières d'humidité, de température, d'éclairement, d'aération ou d'habitat. C'est ce qu'on a clairement vu, ici même, par l'étude de la germination des *Cattleya :* les sphérules ne se développent pas sans endophyte, mais, l'infestation même étant réalisée, le développement se fait mal et pratiquement n'aboutit pas si les plantules ne sont pas placées de bonne heure dans les conditions de la vie épiphyte. Un *Cattleya* ne vivrait pas sous nos climats côte à côte avec un *Spiranthes* dans un sol argileux, même si ce sol était infesté par l'endophyte qui convient à l'une comme à l'autre plante. Quand on cherche à comprendre pourquoi les semis horticoles sont d'une réussite incertaine et difficile, ce n'est pas l'infestation seule qu'il faut avoir en vue ; une réflexion quelque peu attentive montre même qu'il ne faut pas le plus souvent attribuer l'insuccès à l'absence de l'endophyte.

Dans les serres spéciales où se fait la culture d'Orchidées qui sont toutes infestées, l'endophyte est évidemment répandu avec abondance dans les sols de culture, sur la paroi des pots ou des paniers et un peu partout dans la serre. Il ne doit guère être plus facile pour un horticulteur de garder les terrines de semis dans sa serre à l'abri de l'endophyte, qu'il ne serait facile de conserver dans une fromagerie un pot de lait à l'abri des ferments lactiques. L'infestation d'un semis finira généralement par se faire, tôt ou

Digitized by Google

tard, souvent même malgré les pratiques mal comprises que l'horticulteur suivra. En fait, depuis que la culture des Orchidées se fait en grand, la germination de ces plantes qui passait autrefois pour presque impossible est devenue réalisable. Sans prendre aucune précaution spéciale pour assurer l'infestation, la plupart des horticulteurs réussissent aujourd'hui *certaines germinations d'Orchidées;* mais la pratique a montré que *la réussite des semis présente des difficultés très inégales suivant les genres ou les espèces.* Le problème pratique est moins de trouver une méthode générale, applicable à toutes les Orchidées, que de découvrir les méthodes particulières qui conviennent à chaque cas.

Mes expériences ont porté seulement sur des germinations qui passent pour faciles, et, si la valeur théorique des résultats n'en est pas diminuée, leurs conséquences pratiques au moins doivent être envisagées sans exagération. Ceux de mes correspondants qui se sont intéressés à mes recherches m'ont demandé conseil non pas le plus souvent sur la germination des *Cattleya* ou des *Cypripedium* qu'ils savent plus ou moins réussir, mais sur celle des *Odontoglossum*, des *Phalænopsis* ou des *Vanda*, par exemple, dont le semis présente de plus grandes difficultés. J'ai tenté en particulier de faire germer des graines de *Phalænopsis* ou de *Vanda*, mais jusqu'à présent sans succès. Les graines de *Phalænopsis*, semées sur du coton humide ou sur des milieux gélosés, maintenues à la lumière ou à l'obscurité, se gonflent dans les semis aseptiques sans verdir et sans se différencier notablement. L'endophyte, introduit dans les cultures pénètre bien l'embryon à son pôle suspenseur et s'étend dans les cellules voisines tout en respectant le sommet végétatif; à la longue il se forme des masses de dégénérescence typiques dans les cellules infestées, mais les cellules indemnes ne s'accroissent ou ne prolifèrent que très peu. En définitive je n'ai observé que rarement des débuts de développement assez insignifiants.

En vérité je n'ai pas obtenu directement l'endophyte des racines de *Phalænopsis* et il se peut qu'il faille, pour cette plante, un champignon spécial; mais cela n'expliquerait ni l'insuccès que j'ai eu avec le *Spiranthes* dont je possédais l'endophyte, ni les résultats de la pratique. On ne voit pas pourquoi un horticulteur qui cultive à la fois des *Cattleya* et des *Vanda* aurait plus fréquemment

Digitized by Google

l'endophyte d'un des genres que l'endophyte de l'autre ; pourtant les semis de *Cattleya* réussiront presque à coup sûr dans les serres, tandis que les semis de *Vanda* seront presque toujours infructueux. La difficulté ne doit pas être uniquement d'assurer l'infestation par un endophyte convenable, mais de connaître les autres conditions nécessaires à la réussite. Je n'ai pas su découvrir ces conditions dans tous les cas; les horticulteurs non plus ne les connaissent pas toujours, au moins avec précision, puisque la réussite de certains semis dans les serres reste un fait exceptionnel et un hasard heureux.

Utilité de l'infestation régulière du sol

Si l'infestation n'est qu'une condition nécessaire parmi beaucoup d'autres et l'une des plus facile à réaliser, on doit cependant en tenir compte et l'on peut par là obtenir au moins des progrès de détail. C'est ce dont j'ai pu m'assurer en étudiant à divers reprises la germination des *Cattleya* en serre ; j'exposerai ici ce que je sais de ce cas, et l'on verra par cet exemple la nature du progrès possible.

Les semis de *Cattleya* se font généralement sur de la sciure de bois, dans des terrines qu'on couvre d'une lame de verre et qu'on prend seulement soin de ne pas laisser se dessécher par trop. Cette méthode très simple réussit assez souvent, elle expose pourtant à quelques mécomptes dus à trois causes principales. D'abord la culture est presque toujours assez lente à se mettre en train : dès les premières semaines les sphérules se forment assez régulièrement, mais elles restent souvent dans un état stationnaire pendant quelques semaines ou quelques mois ; même il arrive que la culture périsse sans que ce stade ait été dépassé. En général, après un temps d'arrêt, les plantules s'infestent et commencent à progresser ; on voit alors entre elles d'assez grandes différences. Les tubercules embryonnaires ne commencent communément à être bien formés qu'après quatre ou cinq mois ; à ce moment une seconde difficulté se présente, les terrines commençant à se couvrir une flore abondante d'algues ou de moisissures qui menacent d'étouffer les graines. Il n'est guère possible de prolonger plus d'un an cette culture en terrines et il faut tôt ou tard isoler les plantules pour les repiquer dans un sol nouveau. Cette opération du repiquage est encore

Digitized by Google

fatale à beaucoup de plantules et marque une troisième époque critique des cultures.

Le repiquage restera toujours une opération délicate, d'autant plus que les plantules seront moins développées ; quand j'ai transporté des plantules d'un tube dans un autre, je les ai vu souvent mourir de cette simple opération ; pourtant j'opérais dans des conditions d'asepsie évitant toute possibilité d'une pourriture. Ce que les plantules ont à craindre dans ces transplantations, ce ne sont pas surtout des maladies microbiennes accidentelles survenant à la suite de blessures, mais plutôt le seul changement brusque des conditions de vie, auquel elles paraissent être d'une extrême sensibilité. Il existe donc là une difficulté qu'on pourra seulement atténuer si l'on parvient à obtenir dans les terrines même où s'est fait le semis des plantules bien développées ; or, justement, c'est de ce côté qu'un progrès est possible.

Les horticulteurs, qui ont en vue d'éviter l'invasion de leurs semis par les moisissures, essaient souvent, avec raison, d'y parvenir au moyen de précautions de propreté ; ils prennent de la sciure de bois fraîche, des terrines neuves ou lavées soigneusement et ils couvrent leurs semis. Mais s'ils retardent ainsi l'époque où la sciure moisit, en évitant plus ou moins les germes accidentels, ils retardent d'autant la levée de leurs graines en empêchant aussi, dans la mesure possible, l'introduction des germes de l'endophyte nécessaire. C'est alors, comme on le voit assez souvent, que les graines s'arrêtent à l'état de sphérules, pour longtemps ou pour toujours.

Il est clair qu'on pourra éviter les deux inconvénients si l'on assure dès le début l'infestation par l'endophyte et qu'on se tienne autant que possible à l'abri de germes nuisibles. M. Denis m'a écrit qu'il avait obtenu des succès très réguliers en semant des fragments de racines en même temps que les graines. Ce moyen est le plus simple qu'on puisse conseiller, il sera toujours à la fois facile et utile de mêler au compost des terrines à germinations un peu de terreau avec quelques fragments de racines provenant des paniers où l'on a cultivé des Orchidées adultes de l'espèce qu'on sème. On peut agir plus sûrement en employant du mycélium obtenu en cultures pures. J'ai fait quelques envois de mycélium à mes correspondants en les priant de semer par moitié les graines de leurs fruits sur de la sciure infestée avec ce champignon ou sur

Digitized by Google

de la sciure quelconque. Les résultats ont eu toute la netteté désirable ; je les ai constatés moi-même pour les semis de M. Magne: après cinq mois de culture les plantules des semis faits suivant mon conseil avaient une ou deux feuilles et étaient bonnes à repiquer ; les plantules des semis faits suivant la méthode usuelle n'atteignaient alors, pour la plupart, que le stade de sphérule ou le dépassaient à peine (1).

Cependant, si la germination devient beaucoup plus régulière dans les terrines infestées dès le début, elle n'atteint pas encore à une régularité parfaite; il reste des plantules retardataires au milieu des plus avancées et cela tient alors, selon toute évidence, à une inégale répartition de l'eau. Sur les bords des terrines, plus exposés à la dessiccation, les plantules progressent souvent mieux qu'au centre où l'humidité est plus permanente; telle plantule, restée sur un fragment de bois un peu volumineux se développe mieux que telle autre tombée à un niveau plus bas. Un horticulteur m'a montré autrefois un cas bien net et très frappant d'un fait analogue : dans un semis de *Cattleya* les plantules semées sur la sciure étaient peu avancées et en mauvais état, mais quelques graines tombées par hasard sur l'étiquette de bois fichée dans le pot donnaient des plantes vigoureuses qui avaient trouvé là les conditions de la vie épiphyte.

Au point de vue pratique, il resterait désirable que chaque cas fût étudié, *d'abord au laboratoire*, non seulement au point de vue de l'infestation, mais encore pour préciser toutes les conditions nécessaires à la culture. D'une étude de ce genre on pourrait espérer d'assez grands résultats ; sans doute pour la guider il serait précieux de connaître les observations que les praticiens ont faites déjà. Presque tous les horticulteurs ont des *secrets* et ils en font grand mystère ; pour autant que j'ai pu voir, le mystère cache souvent des faits qu'il serait utile de connaître et bon d'interpréter : il doit bien arriver dans certains cas aussi qu'il couvre des pratiques illusoires célées avec autant de soin que des règles utiles. Ce mystère, quoi qu'il en soit, ne sert en rien au progrès.

(1) L'infestation précoce des semis peut éviter aussi un autre inconvénient résultant de la perte du pouvoir germinatif des graines qui ont trop longtemps à attendre l'endophyte. Pour les *Cypripedium* en particulier, dont le pouvoir germinatif ne dure pas longtemps, les horticulteurs n'ont souvent que des levées tardives et très irrégulières; la plupart des graines ne se développent pas et sont sans doute devenues incapables de germer.

Digitized by Google

RÉSUMÉ

Un même champignon a été obtenu en cultures pures à partir d'Orchidées appartenant aux genres *Cypripedium, Cattleya et Spiranthes*. Des graines de *Cypripedium, Cattleya, Lælia, Brassavola et Bletia*, semées avec ce champignon, à l'exclusion de tout autre microorganisme ont donné des plantules normales, régulièrement infestées. Le champignon obtenu est donc bien l'endophyte normal des Orchidées qui viennent d'être citées et sans doute de beaucoup d'autres plantes de cette famille. Par ses caractères, cet endophyte se place au voisinage du groupe assez mal défini des *Oospora*.

Les graines d'Orchidées ne se développent pas ou ne se développent qu'imparfaitement en milieu aseptique ; elles prennent leur développement régulier en présence de l'endophyte, après que celui-ci a envahi certains tissus des embryons ou des plantules. Les cas étudiés ici correspondent à trois types assez distincts :

1° Les graines de *Cypripedium* ne sont capables d'aucun développement en milieu aseptique.

2° Les graines de *Cattleya* peuvent vivre plusieurs mois en l'absence d'endophyte, différencier certains tissus et doubler à peu près de taille en donnant des *sphérules*; l'état de sphérule ne peut être dépassé qu'à la suite de l'infestation.

3° Le *Bletia hyacinthina*, dont les graines sont relativement très différenciées, présente un cas extrême sans doute rare chez les Orchidées : l'embryon jouit d'abord d'une immunité presque complète, il différencie et développe en culture aseptique quelques feuilles, une tige et des poils absorbants ; la jeune plantule ainsi formée arrive à un *stade critique* où elle devient capable de s'infester. Après infestation, le développement se poursuit régulièrement; en l'absence d'endophyte, il devient plus lent et vraisemblablement se limite bientôt.

Le champignon endophyte a donc une action incontestable sur le développement des plantes qu'il infeste. Il agit surtout en provoquant *la croissance*. Quand l'infestation atteint des plantules déjà hautement différenciées, comme celles du *Bletia*, la croissance est activée sans pour cela cesser de se faire suivant un mode normal; quand

Digitized by Google

l'infestation atteint des organismes moins différenciés, comme les sphérules de *Cattleya*, elle entraîne une croissance prématurée et anormale qui aboutit à la formation d'un *tubercule embryonnaire*.

Cette action sur la croissance se fait sentir *à distance :* jamais une cellule en voie de croissance ne s'infeste ; toute cellule infestée cesse de s'accroître comme de se multiplier et est vouée à la mort; les cellules qui s'accroissent à la suite de l'infestation sont toujours plus ou moins éloignées des tissus directement infestés.

La connaissance du rôle d'un champignon dans la germination des Orchidées permettra de réaliser plus sûrement les semis de quelques-unes de ces plantes dans la pratique horticole.

REMARQUES THÉORIQUES

L'infestation constante à l'état adulte n'est pas un fait particulier aux Orchidées. Un être supérieur, dans les conditions naturelles de sa vie, est rarement réduit à la colonie des cellules dérivant de l'œuf; souvent des microorganismes s'ajoutent aux éléments normaux de cette colonie : bactéries du tube digestif chez les animaux, bactéroïdes des nodosités chez les Légumineuses, champignons radicicoles des plantes à mycorhizes, pour citer seulement les exemples les plus classiques. Mais tandis qu'un cobaye, un têtard, une graine de Légumineuse ou une graine de Pin peuvent se développer, au moins quelque temps, sans parasites, un *Cypripedium*, au contraire, ne germe pas sans infestation ; c'est, si je ne me trompe, le premier exemple certain qu'on ait d'un être supérieur dont la vie libre ne peut même pas commencer en l'absence d'un parasite.

Comparées aux autres plantes à endophytes, qui sont légion, les Orchidées présentent un cas extrême : la nécessité de l'infestation dès le début du développement est évidemment un fait assez particulier. Cependant ce cas n'est pas unique : dans des groupes divers de végétaux supérieurs on rencontre des plantes aussi hautement adaptées que les Orchidées à vivre avec des parasites. J'ai fait déjà remarquer que les spores des Lycopodiacées et des

Digitized by Google

Ophioglossées ne doivent germer qu'en s'infestant (1) ; il en est sans doute de même pour les graines indifférenciées des plantes dites « holosaprophytes » appartenant à des familles fort diverses.

Il est vraisemblable, d'autre part, qu'une aussi parfaite accoutumance à la vie en commun avec des parasites ne se réalise pas d'un seul coup ; déjà le *Bletia* donne l'exemple d'une plante restée à mi-route sur le chemin d'une spécialisation excessive. Dans le nombre immense des plantes qui hébergent communément des parasites, on doit s'attendre à rencontrer des exemples plus ou moins parfaits d'adaptation ; il doit exister des degrés dans l'accoutumance à la maladie, comme il existe des degrés dans l'accoutumance au parasitisme.

Dans le cas extrême des Orchidées, il apparaît avec un maximum de netteté que des rapports étroits existent entre l'infestation et le développement de la plante. Il est hautement probable que des rapports de même nature existent ailleurs et qu'on peut, dans une certaine mesure, généraliser les conclusions acquises par l'étude d'un cas extrême, puisque ce cas n'est pas unique ni absolument isolé.

Mode d'action de l'Endophyte

La conséquence essentielle de l'infestation chez les Orchidées est la reprise de la croissance cellulaire qui était tôt ou tard arrêtée en milieu aseptique. La croissance s'accompagnant en général d'une absorption d'eau, on doit penser qu'une des conséquences de l'infestation est de provoquer cette absorption de l'eau par certaines cellules de la plante. Nous sommes ainsi ramenés à un domaine de questions où des notions assez précises existent.

Qu'il s'agisse de turgescence ou de croissance, l'eau pénètre toujours dans la cellule par osmose. S'il s'agit d'un phénomène de turgescence, elle pénètre jusqu'à ce que la pression osmotique, décroissante à mesure que le suc cellulaire se dilue, soit équilibrée par les forces de tension croissantes des parois élastiques de la

(1) Sur quelques germinations difficiles (*Revue gén. de Bot.*, t. XII, 1900). Les recherches récentes de Lang (On the prothalli of *Ophioglossum pendulum* and *Helmintostachys Zeylanica*. — *Annals of Botany*, t. XVI, 1902) et de Thomas (Preliminary account of the prothallium of *Phylloglossum*. — *Proceed. Roy. Soc. Lond.*, janvier 1902) donnent de nouveaux exemples d'infestation précoce de prothalles d'Ophioglossées et de Lycopodiacées.

Digitized by Google

cellule ; l'absorption d'eau s'arrête quand cet équilibre est atteint. S'il s'agit au contraire de croissance, l'équilibre ne s'établit pas : la cellule s'accroît en restant turgescente, la pression osmotique ne décroît pas indéfiniment malgré la pénétration continue de l'eau ; on doit donc supposer que la concentration des substances dissoutes dans le suc cellulaire ne varie pas ou varie peu, sans doute parce que les parties colloïdales du protoplasma fournissent au suc cellulaire des quantités nouvelles de substances solubles. *Le phénomène de croissance est la manifestation visible de transformations du contenu de la cellule ayant pour résultat d'augmenter la quantité absolue des substances dissoutes dans le suc cellulaire.*

Quand les cellules d'une sphérule de *Cattleya* s'accroissent brusquement après l'infestation, on doit penser que le suc cellulaire de la plante s'est enrichi en substances dissoutes (1). On sait d'ailleurs que la nature chimique de ces substances importe peu pour les phénomènes osmotiques ; l'expérience met en évidence plutôt *des conséquences physiques de l'infestation* que des conséquences chimiques. Si l'on veut comprendre l'action de l'endophyte, ce qu'il faut avoir en vue, ce sont ces conditions de concentration du suc cellulaire d'où dépendent les propriétés osmotiques et, en définitive, l'équilibre physique des cellules du corps.

De ce point de vue, il apparaît que l'*infestation équivaut à l'introduction de substances solubles dans le corps de la plante, ou, si l'on veut, à l'inoculation d'une solution concentrée.* Par une semblable inoculation faite avec des substances non toxiques, quelles qu'elles soient d'ailleurs, on pourrait peut-être suppléer expérimentale-

(1) On a vu que, dans les cellules infestées, l'amidon disparaissait, transformé sans doute en sucres dissous. On comprend que l'endophyte, par de semblables actes de digestion, puisse modifier la teneur du suc cellulaire en substances dissoutes dans les cellules même où il pénètre. Ces cellules directement infestées ont toujours terminé leur croissance quand l'endophyte les envahit, elles sont squelettifiées et immuables ; mais il est clair que, soit simplement par des phénomènes de diffusion, soit plus probablement par suite de phénomènes complexes de coordination entre les cellules, un nouvel état d'équilibre doit tendre à s'établir entre tous les tissus de la plante ; par là sans doute est entraînée la réaction des tissus embryonnaires qui s'accroissent. Pour comprendre l'*action à distance* de l'endophyte il n'est pas nécessaire de supposer que des toxines ou des diastases, sécrétées par ce champignon, ont pu gagner toutes les parties du corps. Le jeu régulier des mécanismes de coordination qui règlent en tout temps l'équilibre physique des cellules de l'organisme doit suffire à expliquer l'action de l'endophyte sur des tissus éloignés du lieu même de l'infestation.

Digitized by Google

ment à l'infestation même. L'expérience est au moins difficilement praticable pour de jeunes Orchidées, mais on peut la réaliser pour des plantes plus volumineuses ; on verra plus loin l'un de ses résultats.

L'Evolution des Orchidées

L'œuf chez les Orchidées se développe d'abord d'une manière normale après la fécondation, mais les embryons passent prématurément à l'état de repos et sont encore morphologiquement indifférenciés quand les capsules s'ouvrent. On a vu de plus, par l'examen des difficultés multiples de la germination, que ces embryons montrent une incapacité physiologique anormale : quels que soient les soins qu'on pourra apporter à une culture rationnelle, on n'en est pas au jour où l'on verra une graine d'Orchidée germer sans plus de peine qu'un caryopse de Maïs. Tandis que chez les Monocotylédones en général les embryons des graines sont bien différenciés et se développent aisément; chez les Orchidées, au contraire, la reproduction sexuée aboutit toujours à une sorte d'avortement ; les graines rudimentaires de ces plantes sont comme des fœtus, mis au monde avant terme, qu'on parvient bien parfois encore à élever, mais au prix de difficultés sans nombre.

Cette désharmonie dans la reproduction par graines est d'autant plus remarquable que les Orchidées ont, entre toutes les Monocotylédones, les fleurs les plus complexes et les mieux adaptées à l'entomophilie. Evidemment l'état rudimentaire des graines ne peut pas être considéré ici comme un caractère primitif ; la dégradation de l'embryon s'est produite dans ce groupe de plantes infestées (et aussi bien pour les Orchidées vertes que pour les Orchidées sans chlorophylle), comme elle s'est produite dans d'autres groupes de plantes à mycorhizes (Burmanniacées, Triuriacées, Monotropées, certaines Gentianées, etc.) ; ce caractère, aussi fréquent chez les plantes parasitées que chez les plantes parasites, est manifestement dû, dans un cas comme dans l'autre, aux conditions particulières de la vie. Quelles que soient les Monocotylédones dont les Orchidées ont pu dériver, ces plantes ancestrales devaient avoir à la fois des fleurs plus simples et des graines plus parfaites. La complexité de structure des fleurs, acquise par les Orchidées actuelles, peut paraître le résultat d'une évolution nor-

Digitized by Google

male, semblable à celle accomplie par d'autres familles d'Angiospermes, comme les Légumineuses ou les Labiées ; l'atrophie des graines au contraire paraît un fait exceptionnel, attribuable à l'infestation. En fait, le *Bletia hyacinthina*, infesté moins tôt et moins profondément que d'autres Orchidées, garde aussi des graines à embryons mieux conformés; il reste par là plus voisin de la souche de sa famille.

Sans doute, au cours des temps, des maladies parasitaires capables d'entraver la reproduction sexuelle ont fait disparaître bien des espèces animales ou végétales ; on rencontre ici un cas remarquable où des plantes ont pu s'adapter à une maladie d'un caractère aussi grave. Chez les plantes ancêtres des Orchidées, à la suite des premières atteintes de l'endophyte, la maturation normale des graines a dû être plus ou moins entravée, ces plantes ne produisant plus que des avortons au lieu de rejetons normaux. Au début, comme il arrive encore pour le *Bletia*, ces graines précocément libérées pouvaient germer encore assez facilement, en donnant seulement des plantes délicates, d'une croissance difficile. Mais il s'est trouvé que l'infestation même était un stimulant pour la croissance de ces plantes affaiblies, mises sans cela en état d'infériorité dans la lutte pour l'existence ; c'est grâce à cette heureuse coïncidence que la vie de ces plantes malades a pu se continuer. Cela n'empêche pas d'ailleurs que les symptômes de la maladie, devenue précoce et constante, aient continué d'empirer : on est arrivé aux Orchidées actuelles qui, tout en produisant par milliers leurs graines rudimentaires, restent cependant des plantes relativement rares, dont la germination et la culture exigent des soins inaccoutumés. Il faut bien qu'on veuille à tout prix trouver la raison finale des choses pour qu'on admire encore la marche qu'elles suivent ici, en proclamant la symbiose harmonieuse du parasite et de la plante qui parvient à le supporter !

Quoi qu'il en soit, l'action de l'endophyte sur le développement des Orchidées, évidente au début de la vie quand les graines germent, se fait sentir encore à la fin de l'évolution quand des graines nouvelles mûrissent. Il devient manifeste que cette action doit exister pendant toute la vie et que d'autres symptômes de l'infestation doivent se rencontrer au cours de l'évolution de chaque plante.

Digitized by Google

Evidemment ces symptômes doivent être divers puisque les Orchidées présentent des modes de végétation variés. Comme caractéristique assez particulière, on ne trouve que ceci : *le développement des Orchidées se fait avec une lenteur inaccoutumée chez les plantes herbacées.* Les horticulteurs connaissent cette lenteur, désespérante pour eux, puisque les Orchidées semées dans leurs serres n'arrivent presque jamais à fleurir avant cinq ou six ans, parfois pas avant dix ou douze. Dès le début de la vie le développement se trouve ralenti par les anomalies de croissance qui entraînent une tubérisation précoce ; dans la suite, la vie active est de même interrompue périodiquement par la formation de bulbes, de pseudo-bulbes, de rhizomes à racines charnues ; chaque année les horticulteurs voient les Orchidées de leurs serres rester stationnaires pendant quelques mois. En tout temps d'ailleurs, le développement peut rester lent et sembler en quelque sorte pénible : le *Neottia Nidus-avis* commence à différencier ses fleurs plus d'un an avant la floraison ; beaucoup d'Orchidées tropicales, après la pollinisation, mettent plusieurs mois, parfois plus d'un an, à former leurs fruits et leurs graines rudimentaires ; de tels exemples abondent qui témoignent de cette lenteur extrême de la vie.

En un mot, *les caractères propres aux plantes herbacées vivaces sont exagérés chez les Orchidées,* il y a lieu de se demander si l'état de vie ralentie perpétuelle de ces plantes ne dépend pas des mêmes causes que l'état de repos prématuré de leurs graines. En poussant loin l'hypothèse, on est amené à penser que le passage à l'état vivace peut être un symptôme d'infestation, et l'on peut se demander si beaucoup de plantes vivaces autres que les Orchidées ne doivent pas à une action parasitaire de former des bulbes, des rhizomes ou des tubercules, quand bien même ces plantes, éloignées encore des états d'adaptation extrêmes, auraient des graines volumineuses capables de germer sans infestation.

Mais avant d'envisager une hypothèse aussi générale, il y aurait trop de questions préliminaires à résoudre pour que je veuille donner ici autre chose qu'une indication. Sur un point cependant cette indication peut être précisée : une étude des Ophrydées m'avait amené antérieurement à considérer la formation des tubercules chez divers végétaux comme le symptôme d'une infestation parasitaire, cela m'a valu des critiques et a suggéré des recherches qui exigent une mise au point.

Digitized by Google

La Tubérisation

Cherchons à dégager les caractères essentiels du phénomène de tubérisation en prenant pour exemple le cas classique et simple de la Pomme de terre (1).

La croissance des stolons souterrains d'une jeune plante, avant la formation des tubercules, se fait d'abord d'une façon normale : en arrière du bourgeon terminal formé de petites cellules, se trouve une région de croissance où les cellules s'allongent sans s'épaissir notablement; le stolon s'accroît en restant grêle. C'est ce phénomène de croissance qui change d'allure quand la période de tubérisation commence : *le tubercule commence à se former en arrière du bourgeon terminal, dans la région correspondante à celle où la croissance normale s'effectuait;* les cellules de cette région, au lieu de s'allonger, s'accroissent en restant isodiamétriques, et comme conséquence de ce mode nouveau de croissance, la tige s'épaissit plus et s'allonge moins. Il se produit bien dès ce moment des recloisonnements cellulaires, un peu partout, mais, en définitive toutes les cellules de la moelle et de l'écorce s'hypertrophient considérablement; elles sont dix à vingt fois plus volumineuses dans un tubercule adulte que dans un stolon normalement accru.

La tubérisation, au point de vue morphologique, est une *anomalie de croissance*; entre une tige normale de pomme de terre et une tige tubérisée, les différences sont exactement du même ordre qu'entre la tigelle élancée d'une plantule aseptique de *Bletia* et le tubercule embryonnaire d'un *Cattleya* infesté ; on peut comparer la tubérisation précoce des Orchidées à la tubérisation tardive d'autres plantes sans jouer sur les mots.

En reprenant et étendant des expériences de E. Laurent (2), j'ai montré (3), au point de vue physiologique, que la *tubérisation*

(1) Je m'appuie pour cet exposé sur des observations ou des expériences, en partie inédites, ayant porté sur des Pommes de terre de la variété « Victor ».

(2) Recherches expérimentales sur la formation d'amidon dans les plantes aux dépens de solutions organiques. (*Bull. Soc. Roy. de Bot. de Belgique*, t. XXVI, 1888).

(3) Conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux. (*Comptes-Rendus Acad. des Sc.*, 27 octobre 1902). Le lecteur, en se reportant aux données numériques fournies dans cette note, voudra bien rectifier une erreur d'impression qui a fait rapporter à 1000 vol. au lieu de 100 vol. les poids de substances dissoutes dans les solutions employées.

Digitized by Google

dépend de la concentration des liquides de l'organisme : des tiges aériennes de Pomme de terre, bouturées dans des solutions de diverses substances, développent leurs bourgeons en rameaux normaux, tant que la concentration reste au-dessous d'une limite critique, ou en tubercules, quand cette limite est dépassée. Dans ces expériences, *la production du tubercule résulte directement de l'inoculation d'une solution concentrée à l'intérieur de la plante.* Les recherches de Molliard doivent sans doute conduire à des conclusions du même ordre : des Radis (1) ou des Oignons (2), cultivés aseptiquement, se sont tubérisés, *mais seulement quand le milieu de culture renfermait une assez forte proportion de glucose.* De même des plantes de Pomme de terre *soumises à la dessiccation* donnent précocément des tubercules, comme l'a montré Vöchting (3), ce qui plaide dans le même sens, la dessiccation étant un moyen expérimental simple d'augmenter la concentration des liquides d'un organisme.

La tubérisation étant *une anomalie de croissance due à une augmentation anormale de concentration de la sève*, apparaît manifestement, à ce double point de vue, comme un des phénomènes *qui peuvent dépendre* d'une infestation, puisqu'on a vu ici même que l'infestation chez les Orchidées influait sur la teneur des liquides de l'organisme en substances dissoutes et, par suite, sur la croissance.

Par l'inoculation de solutions concentrées dans le corps d'une plante, par la culture dans des solutions de glucose ou encore par la dessiccation on peut obtenir *expérimentalement* la tubérisation en l'absence de parasites, mais il serait tout à fait illogique d'en déduire que, *dans la nature*, le parasitisme n'a rien à voir avec la tubérisation. Parce qu'on a reconnu au laboratoire que la toxine tétanique peut produire les symptômes du tétanos typique, on n'admet pas moins que le tétanos est une maladie microbienne; parce qu'on a provoqué le développement d'œufs vierges par une déshydratation expérimentale, on n'a pas nié que la fécondation

(1) Sur l'action des Microorganismes dans la formation d'un tubercule chez le Radis. (*Comptes-Rendus de la Soc. de Biologie*, 25 octobre 1902).

(2) Sur l'obtention de bulbes chez l'Oignon en cultures aseptiques. (*Bull. de la Soc. Bot. de France*, 4e série, t. III, 1903).

(3) Ueber die Keimung der Kartoffelknollen. (*Bot. Zeit.*, t. LX, 1902).

Digitized by Google

normale gardât dans la nature un rôle prépondérant ! Dans leurs conditions naturelles de vie, les plantes à tubercules ne se développent pas dans des solutions de glucose ; elles se tubérisent aussi bien dans les années pluvieuses que dans les années sèches ; il reste à trouver, dans chaque cas, *la condition naturelle* qui provoque la rupture d'équilibre dont la tubérisation est une conséquence.

Si l'on se rappelle, comme Stahl (1) en particulier l'a fait remarquer, qu'un grand nombre de plantes à bulbes ou à tubercules sont communément infestées, il paraît encore raisonnable de penser que, dans bien des cas et en dehors même de la famille des Orchidées, une infestation parasitaire a pu être cette circonstance naturelle amenant à l'état vivace les plantes arrivées aujourd'hui à se reproduire normalement par tubercules.

Mais, au point de vue même du parti qu'il convient de tirer de statistiques établissant la fréquence de l'infestation dans tel ou tel groupe de plantes, une remarque reste à faire qui répondra en particulier à une objection soulevée par Gallaud dans un travail récent (2).

Gallaud observe que certaines plantes (*Arum maculatum*, *Ficaria ranunculoïdes*), très communément infestées, ne le sont cependant pas toujours *à l'état adulte*; à côté de plantes largement envahies, d'autres se trouvent parfois chez lesquelles un examen minutieux des racines ne révèle aucune présence d'endophyte; pourtant les unes ne diffèrent pas sensiblement des autres. Gallaud conclut de là que l'infestation n'a généralement aucune action sur le développement des plantes infestées ; il met cependant à part le cas des Orchidées pour lequel mes vues lui semblent acceptables.

Je ne crois pas que l'objection soit valable, mais, en tous cas, la restriction faite en faveur des Orchidées ne le serait pas : dans la nature, l'infestation n'est pas plus une règle absolue pour les Orchidées *adultes* que pour d'autres plantes à endophytes. L'objection de Gallaud doit prendre une forme plus générale. Frank (3) a trouvé des *Epipactis latifolia* et *Listera ovata* dont les racines étaient

(1) E. Stahl: Der Sinn der Mycorhizenbildung. (*Jahrb. für wiss. Bot.*, t. XXXIV, 1900).

(2) Etudes sur les mycorhizes endotrophes. Thèse, Paris, 1904.

(3) Ueber neue Mycorhiza-Formen. (*Ber. der deut. Bot. Gesell.*, t. V, 1887).

Digitized by Google

indemnes ; le *Wullschlægelia aphylla*, d'après Johow (1), est le plus souvent dépourvu d'endophyte à l'état adulte ; Mac Dougal (2), qui a observé un fait analogue pour le *Cephalanthera oregana*, propose de distinguer deux types de plantes saprophytes, les unes vivant avec des champignons et les autres sans mycorhizes. Or, dans ce second groupe on trouverait justement des Orchidées comme le *Wullschlægelia* (voisin du *Neottia*), ayant des graines indifférenciées et présentant au plus haut point les caractères aberrants de la famille que j'attribue à l'infestation !

En vérité, s'il était démontré que des plantes comme les *Wullschlægelia*, les *Cephalanthera* ou les *Epipactis* peuvent *se développer* sans endophyte, les idées que j'ai émises deviendraient difficiles à soutenir ; mais, pour le moment, il reste à attendre que cette preuve soit faite. J'ai tenté autrefois de faire germer des graines d'*Epipactis latifolia* en semis aseptiques et je n'ai pas vu du tout ces graines se modifier ; je me crois autorisé provisoirement à admettre que des graines indifférenciées de *Wullschlægelia* ou de *Cephalanthera* ne se développeraient pas davantage et que l'évolution de ces plantes ne s'accomplirait pas non plus sans une infestation. Or, s'il arrive, au moins parfois, qu'une de ces Orchidées, dont le développement exige de longues années, soit pour un moment débarrassée d'endophyte quand elle atteint l'âge adulte, devra-t-on admettre qu'elle ne montre plus trace de la lutte prolongée soutenue contre l'infestation ? Devra-t-on admettre que le trouble profond de l'équilibre physique des tissus, occasionné par l'infestation, a disparu en un instant, qu'il n'y a aucun souvenir chez un être adulte des crises traversées dans le cours de sa vie ?

Une étude complète du cycle évolutif d'une plante et des conditions où il s'accomplit est assurément la connaissance préliminaire indispensable pour comprendre la raison des caractères que la plante possède quand elle arrive à la fin de sa vie. Pour la Ficaire, que Gallaud cite, cette étude monographique n'est pas moins à faire que pour les Orchidées ; sans doute elle aurait un grand intérêt pour la solution des questions envisagées ici, puisqu'il s'agit

(1) Die chlorophyllfreien Humuspflanzen nach ihren biologischen und anatomisch-entwickelungs-geschichtlichen Verhältnissen. (*Jahrb. für wiss. Bot.*, t. XX, 1889).

(2) Symbiotic saprophytism. (*Annals of Botany*, t. XIII, 1899).

Digitized by Google

d'une plante communément infestée, produisant des tubercules morphologiquement comparables à ceux des Ophrydées, ayant des graines à embryon indifférencié et présentant enfin, pour une des variétés de l'espèce, cette singularité d'avoir du pollen avorté et des ovules inféconds. Mais déjà les conditions précises de la germination des graines sont inconnues dans ce cas, et j'ai signalé seulement l'infestation de jeunes plantules.

Les remarques faites ici, sans qu'il soit nécessaire de les étendre davantage, me permettront, pour le moment, de maintenir que *les champignons endophytes ont une action sur le développement des plantes infestées, spécialement sur la croissance et sur la tubérisation qui en est une anomalie.*

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche 18.

Cultures d'Orchidées.

I, II, III, Cultures de *Cypripedium.*

I. — Semis aseptique de graines, après trois mois de culture.

II. — Semis du même âge, avec l'endophyte.

III. — Une plantule, quatre mois après le semis de la graine avec l'endophyte.

IV et V, Cultures de *Bletia hyacinthina.*

IV. — Semis de quatre mois, aseptique.

V. — Semis du même âge, avec l'endophyte.

Digitized by Google

PLANCHE 19.

Cypripedium.

Fig. 2. — Coupe longitudinale de l'embryon d'une graine mûre; *s*, strophiole du pôle suspenseur. Gr. 240.

Fig. 3. — Coupe longitudinale d'un embryon en germination ; *a*, cellule à amidon ; *m*, cellule infestée à mycélium en bon état ; *d*, cellule infestée où le mycélium est réduit à un peloton de dégénérescence accolé au noyau. Gr. 240.

Fig. 4, 5 et 6. — Coupes longitudinales dans des plantules à diverses époques du développement ; *c*, zone de croissance ; *m*, région où les cellules infestées renferment du mycélium en bon état ; *d*, région où le mycélium est réduit en pelotons de dégénérescence ; *v*, faisceau vasculaire ; R_1, première racine.

Fig. 4. — Plantule dans la première période du développement. Gr. 65.

Fig. 5. — Plantule au début de la seconde période du développement. Gr. 65.

Fig. 6. — Plantule à la fin de la seconde période du développement. Gr. 14.

Fig. 7, 8, 9 et 10. — Aspect extérieur de plantules de divers âges, obtenues dans les cultures expérimentales.

Fig. 7 — Plantule au début de la germination ; *t*, tégument de la graine. Gr. 65.

Fig. 8. — Plantule de trois mois. Gr. 4, 7.

Fig. 9 — Plantule de quatre mois ; R_1, première racine. Gr. 4, 7.

Fig. 10. — Plantule de cinq mois et demi ; R_1, R_2, première et seconde racine. Gr. 4, 7.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE

PARUS DE 1897 A 1902 (*Suite*).

Découverte des anthérozoïdes chez les Gymnospermes.— Hofmeister (1), dans une étude sur les Gymnospermes qui date de 1851, parle de l'existence possible chez ces végétaux d'éléments reproducteurs mâles semblables à ceux des Fougères. Cette hypothèse devait rester dans l'oubli jusqu'à ces dernières années. En 1896 un savant japonais, Hirase (2) découvrit de véritables anthérozoïdes ciliés chez *Ginkgo biloba*. La même année, Ikeno (3), autre japonais, signalait la présence de deux anthérozoïdes, de conformation analogue, dans le pollen de *Cycas revoluta*. Les deux botanistes ont publié ensemble une courte note dans les Annals of Botany (4).

C'est à Webber (5) qui venait de trouver des organes de même forme chez *Zamia* que l'on doit la première description détaillée du développement des anthérozoïdes, du mode de formation de leurs cils à l'aide d'un élément particulier auquel il donne le nom de *blépharoplaste*, et du processus de la fécondation. C'est à la même époque que Belajeff et Shaw publiaient leurs premières observations sur les anthérozoïdes des Fougères.

(1) Hofmeister : *Vergleichende Untersuchungen der Keimung, Entfaltung und Fruchtbildung höherer Kryptogamen und der Samenbildung der Coniferen* (Leipzig, 1851).

(2) Hirase : *L'anthérozoïde du Ginkgo biloba* (Botanical Magazine, Tokio. t. 10, octobre 1896). — *Untersuchungen über das Verhalten des Pollens von Ginkgo biloba* (Bot. Centralbl., t. 69, 1897).

(3) Ikéno : *L'anthérozoïde du Cycas revoluta* (Bot. Magaz., t. 10, nov. 1896). — *Vorläufige Mittheilung über die Spermatozoïden bei Cycas revoluta* (Bot. Centralb., t. 69, 1897).

(4) Ikéno et Hirase : *Spermatozoids in Gymnospermen* (Ann. of Bot., t. 11, 1897).

(5) Webber : *Peculiar structures occuring in the pollen-tube of Zamia* (Bot. Gaz., t. 23, 1897) — *The development of antherozoids of Zamia* (Bot. Gaz., t. 24, 1897). — *Notes on the fecundation of Zamia and the pollen-tube apparatus of Ginkgo* (Id.). — *Antherozoids of Zamia integrifolia* (Rep. Brit. Assoc. Adv. Sc., 1897). — *Are blepharoplats distincts from Centrosomes?* (Science, t. 7, 1898). — *Origin and homologies of the blepharoplats* (Id., t. 8, 1898).

Digitized by Google

Ikeno (1), Hirase (2) et Webber (3) ont complété leurs recherches. Webber déclare que les deux espèces de *Zamia* qui poussent en Floride sont *Z. floridana* et *Z. pumila* ; c'est par erreur qu'il a parlé de *Z. integrifolia* dans ses publications antérieures. Lang (4) a observé des anthérozoïdes chez *Stangeria paradoxa*.

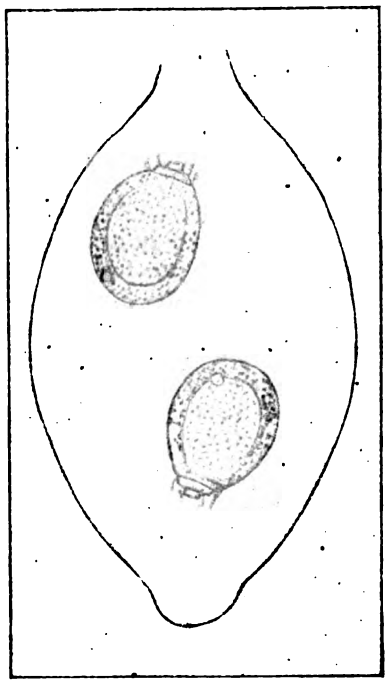


Fig. 77. — Ginkgo. — Les deux anthérozoïdes nageant dans le grain de pollen (d'après Miyake).

Le *Ginkgo* était jusqu'alors classé parmi les Conifères. Les autres espèces sont des Cycadées. Cette découverte fournit un nouveau trait d'union entre les Gymnospermes et les Ptérydophytes.

L'anthérozoïde du *Ginkgo* est un corps ovale, long de 82 μ, large de 49 ; il possède un gros noyau complètement entouré de protoplasme (fig. 77). Sur sa partie antérieure est creusé un sillon décrivant trois tours de spire et occupé par une série de nombreux cils vibratiles. Celui du Cycas lui est tout à fait semblable. Hirase et Ikeno ont décrit ces organes comme pourvus d'un long appendice caudal protoplasmique, se formant au moment de l'émission. Mais il résulte des recherches de Fugii (5), de Miyake (6), de Bessey (7)

(1) Ikéno : *Zur Kentniss des sog. « centrosomähnlichen » Körpers im Pollenschlauch der Cycadeen* (Flora, t. 85, 1898). — *Untersuchungen über die Entwicklung des Geschlechtorgane und der Vorgand der Befruchtung bei Cycas revoluta* (Jahrb. wiss. Bot., t. 32, 1898). — *Contribution à l'étude de la fécondation chez le Ginkgo biloba* (Ann. Sc. nat. Bot., 8e S., t. 13, 1901).

(2) Hirase : *Études sur la fécondation et l'embryogénie du Ginkgo biloba* (2e mém.) (Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokio, t. 12, 1898).

(3) Webber : *Further notes on the spermatogenesis of Zamia* (Science, t. 13, 1901). — *Spermatogenesis and fecondation of Zamia* (Bull. U. S. Depart. Agric., Bureau of plant industry, Washington, 1901).

(4) Lang : *Studies on the development and morphology of Cycadean sporangia. II. The ovule of Stangeria paradoxa* (Ann. of Bot., t. 14, 1900).

(5) Fujii : Bot. Mag. Tokio, t. 12, 1898, et t. 13, 1899.

(6) Miyake : Bot. Mag. Tokio, t. 14, 1900. — Journ. applied micr. and lab. methods, Rochester, t. 5, 1901.

(7) Bessey : Science, t. 13, 1901.

Digitized by Google

sur le *Ginkgo* que ce prolongement n'existe pas; c'était une malformation due à des accidents de préparation. L'anthérozoïde de *Zamia* est ovoïde (sans appendice) et se fait remarquer par ses grandes dimentions (332 μ sur 258 μ). Les anthérozoïdes nagent d'abord dans le grain de pollen, puis une fois mis en liberté, dans le liquide de la chambre pollinique, liquide qui semble produit partie par le pollen, partie par

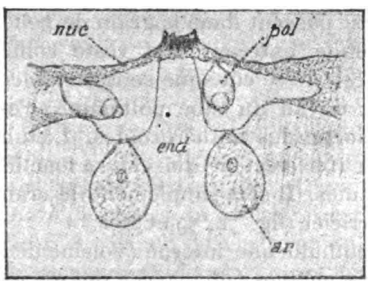


Fig. 78.

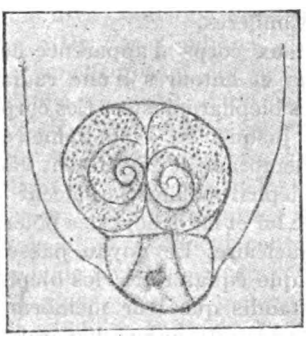


Fig. 80

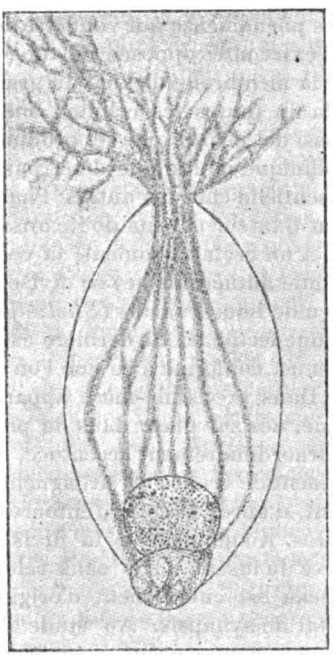


Fig. 79.

Fig. 78. — Ginkgo. — Coupe schématique dans le sommet de l'ovule : *end*, endosperme : *ar*, archégone ; *pol*, grain de pollen fixé dans le nucelle (*nuc*) et pendant dans la chambre pollinique (d'après Hirase).

Fig. 79. — Ginkgo. — Grain de pollen et son crampon (d'après Hirase).

Fig. 80. — Ginkgo. — Portion inférieure du grain de pollen précédent, plus âgée, montrant de face deux anthérozoïdes avec leur blépharoplaste spiralé logés dans la cellule-mère (d'après Miyake).

l'oosphère ou le nucelle. On les a observés nageant dans une solution sucrée (8 à 10 pour cent), les mouvements des cils sont extrêmement actifs : l'anthérozoïde tourne avec rapidité sur lui-même.

Le développement est le même dans ses grandes lignes chez toutes ces plantes. Le pollen mûr est composé de trois cellules : deux petites prothalliennes contiguës et une grande anthéridienne [(non compris

Digitized by Google

une cellule prothallienne, la première formée, qui disparaît avant la maturité du grain, chez *Zamia* et *Ginkgo*, comme d'ailleurs chez *Pinus*). Le pollen germe dans une chambre pollinique, dépression du sommet du nucelle remplie d'un liquide mucilagineux, et qui se referme après la pollinisation par rapprochement de ses bords. Le tube pollinique est formé par la cellule anthéridienne; il s'enracine dans le tissu du nucelle où il demeure simple chez *Zamia*, tandis qu'il s'y ramifie chez *Ginkgo*. Les phénomènes qui vont être décrits se passent dans le grain de pollen à l'extrémité opposée au tube pollinique, extrémité qui reste coiffée de la membrane d'exine du grain. C'est de ce côté que se rassemblent à la fin toutes les cellules, même le noyau du tube pollinique; c'est aussi de ce côté que se produira la sortie des anthérozoïdes. Le tube pollinique ne remplit donc pas ici le rôle vecteur qui est sa fonction essentielle chez les autres Phanérogames. Il sert simplement de crampon fixateur et sans doute aussi nourricier (fig. 78, 79 et 80).

A un certain moment, la cellule prothallienne interne (voisine de la cellule anthéridienne) se divise en deux cellules : une stérile qui n'a pas reçu de nom français (*Stielzelle* des Allemands, *stalk cell* des Anglais) et une fertile. Cette dernière est la cellule-mère des anthérozoïdes. Tout ceci est conforme à ce que l'on sait des Conifères.

Dans la cellule-mère apparaissent deux corps d'apparence homogène, nés sur place dans le protoplasme et entourés d'une radiation extraordinairement accentuée, ce sont les blépharoplastes. Ces corps ne cessent de croître et atteignent bientôt jusqu'à 20 μ de diamètre. Ils sont, d'après Webber, entourés d'une membrane et deviennent vacuolaires. Au moment de la division, les blépharoplastes se placent dans l'axe du fuseau, mais sans relation avec lui et en dehors des pôles. Le fuseau est entièrement d'origine intranucléaire. Le noyau passe par l'état de synapsis. Au stade de la plaque équatoriale, les blépharoplastes commencent à se fragmenter, tandis que leur membrane se montre formée de granules. La radiation kinoplasmique disparaît. Les deux cellules-filles renferment chacune un blépharoplaste et se transforment chacune en un anthérozoïde.

Cette transformation est particulièrement intéressante. Les granules du blépharoplaste se disposent en un ruban qui s'allonge progressivement dans le protoplasme et s'enroule autour du noyau un certain nombre de fois (3 dans *Ginkgo*, près de 6 dans *Zamia*). Sur cette hélice se montrent des protubérances qui deviennent autant de cils vibratiles, inclus dans le protoplasme. Bientôt le protoplasme de la cellule se dispose autour du noyau et comme il fait saillie entre les tours de l'hélice, celle-ci se trouve au fond d'une gouttière.

Ce mode de développement se rapporte surtout au *Zamia* étudié par Webber. Les descriptions d'Ikeno et d'Hirase pour *Ginkgo* et *Cycas* en diffèrent sur deux points importants : 1° Le noyau de la cellule qui se transforme en anthérozoïde, envoie vers le blépharoplaste un

Digitized by Google

prolongement, lequel s'enroule en même temps que lui et constitue avec lui la spirale d'où naissent les cils.

2° Le blépharoplaste, d'après Ikeno, n'est pas formé *de novo* dans le protoplasme. Il est constitué de granulations cyanophiles sorties du noyau à l'état dissous à travers la membrane nucléaire. On trouve parfois dans le noyau une partie de ce matériel cyanophile restée sans emploi. La radiation semble ne pas exister chez *Cycas*, elle est très évidente chez *Ginkgo* et disparaît à l'anaphase. A ce moment le blépharoplaste homogène se transforme en un amas de granules qui, accompagnés du prolongement nucléaire, s'allonge en ruban spiral. Plus tard les granules confluent en une lame portant les cils.

Ikeno considère le blépharoplaste comme étant de nature centrosomienne. Webber déclare au contraire que ce ne peut être ni un centrosome, ni une centrosphère. Dans tous les genres étudiés, il est situé en dehors des pôles du fuseau, il est sans connexion avec la formation du fuseau, il n'existe qu'à cette unique génération de cellules. On n'observe rien de comparable aux autres mitoses, soit avant, soit après la formation de l'œuf. Son rôle est tout à fait spécial, purement locomoteur.

Chez les autres Gymnospermes étudiées depuis cette découverte (nombreuses Conifères, *Gnetum*, *Ephedra*), il n'existe pas de cils. Le noyau mâle des Conifères, du *Ginkgo*, des Cycadées ressemble au noyau femelle dont il diffère surtout par la taille. Il est généralement 2 ou 3 fois plus petit, dans *Ginkgo* 10 fois plus petit. Après sa pénétration dans l'oosphère il est arrondi. Cependant chez les Sequoiacées, d'après Arnoldi, il est contourné en spirale avant la fécondation.

Quant aux éléments mâles des Angiospermes, ils sont dépourvus de cils, mais ils rappellent les anthérozoïdes des Fougères par la forme allongée et diversement contournée de leur noyau. Cette forme du noyau mâle a été observée pour la première fois par Nawaschin (1) chez *Juglans*. C'est la recherche de ces organes chez les Liliacées qui devait conduire l'auteur et Guignard à la découverte de la double fécondation.

Fécondation chez les Cryptogames vasculaires. — Shaw (2) a constaté la pénétration du noyau mâle spiralé dans l'oosphère. Le noyau fécondant ne subit aucun changement de forme ou de structure et on le retrouve intact dans l'intérieur du noyau femelle. Ce dernier reste au repos pendant la durée de cette fécondation. Puis le noyau mâle se résout en un gros amas de granulations chromatiques, tandis que les mailles du réseau de linine du noyau femelle s'élargissent considérablement. Ce noyau femelle est pauvre en chromatine et possède un gros nucléole. La première division de l'œuf fécondé ne se produit

(1) Nawaschin : *Sur la fécondation chez Juglans* (C. R. Section bot. Natur. Pétersbourg, t. 28, 1898).

(2) Shaw : l. c.

Digitized by Google

qu'une semaine après la fécondation. Dès l'entrée du premier anthérozoïde, il se manifeste une plasmolyse évidemment propre à prévenir l'accès du second noyau mâle.

Thom (1) suit la fécondation chez plusieurs espèces d'*Aspidium* et d'*Adiantum*. L'anthérozoïde se débarrasse, dit-il, de son cytoplasme et de son appareil ciliaire avant d'arriver à l'oosphère ou ceux-ci sont entraînés mécaniquement dans le protoplasme de la cellule femelle. Le noyau se loge d'abord dans une dépression superficielle de l'oosphère. Il est constitué d'une masse périphérique de chromatine et d'une substance centrale probablement dérivée des nucléoles. Il existe parfois une dépression du noyau femelle située en face de celle de l'oosphère. Le noyau femelle contient un réseau à granules de chromatine extrêmement petits et un ou plusieurs nucléoles. Le noyau mâle pénètre sans changement dans l'intérieur du noyau de l'oosphère. Là se produit une phase de repos, suivie d'une confusion de la trame chromatique des deux noyaux.

Fécondation chez les Gymnospermes. — L'archégone provient d'une cellule superficielle de l'endosperme qui grossit beaucoup et se divise en une cellule supérieure origine de la rosette ou col de l'archégone et une inférieure. Cette dernière se divise à son tour pour donner l'oosphère et une petite cellule, la cellule du canal. Arnoldi (2) a décrit chez *Cephalotaxus* la formation aux dépens du noyau de l'archégone d'un petit noyau vite dégénéré qu'il ne considère pas, on ne sait pourquoi, comme représentant la cellule du canal. D'après l'auteur, il n'y aurait pas de cellule du canal chez les Séquoiacées (*Taxodium*, *Sequoia*, *Cryptomeria*, *Cunninghamia*) sauf dans le genre *Sciadopytis*.

La cellule du canal ne s'isole pas par une membrane chez *Cycas* (Ikeno, 3). Elle est séparée de l'oosphère par une cloison chez *Ginkgo* (Ikeno), *Pinus silvestris* (Blackmann, 4), *P. Laricio* (Chamberlain, 5,

(1) Thom : *The process of fertilization in Aspidium and Adiantum* (Tr. Ac. Sc. Saint-Louis, t. 9, 1899).

(2) Arnoldi : *Beiträge zur Morphologie der Gymnospermen*. III. *Embryogenie von Cephalotaxus Fortunei* (Flora, t. 87, 1900). — V. *Weitere Untersuchungen der Embryogenie in der Familie der Sequoiaceen* (Bull. Nat. Moscou, 1901).

(3) Les mémoires d'Ikéno, d'Hirase, de Webber ont été cités à propos des anthérozoïdes. Aux travaux spécialement mentionnés ci-après, il faut ajouter : Coulter : *Notes on the fertilization and embryogeny of Conifers* (Bot. Gaz., t. 23, 1897). — Coulter et Chamberlain : *Morphology of Spermatophytes*. II. *Gymnosperms* (New-York, 1901). — Schröter : *Ueber die Vielgestaltigkeit der Fichte* (*Picea excelsa*) (Vierteljahrsschrift Naturf. Ges. Zurich, 1898).

(4) Blackmann : *On the cytological features of fertilization and related phenomena in Pinus sylvestris* L. (Phil. Trans. R. Soc. London, t. 190, 1898).

(5) Chamberlain : *Oogenesis in Pinus Laricio with remarks on fertilization and embryology* (Bot. Gaz., t. 27, 1899).

Digitized by Google

CAVARA, 1), *P. Strobus* (Miss FERGUSON, 2), *Podocarpus* (COKER, 3). Elle ne tarde pas à dégénérer. Cependant chez *P. Laricio*, d'après Chamberlain, le noyau de cette cellule ressemble à celui de l'oosphère par ses dimensions et sa structure; la cellule du canal est évidemment l'homologue de la cellule-oosphère ; elle persiste jusqu'à la pollinisation et son noyau est souvent entraîné dans le protoplasme de l'oosphère par le contenu du tube pollinique.

Le noyau de l'oosphère se remplit d'une substance finement granuleuse (*métaplasme* de Strasburger), puis chemine vers le centre de la cellule et se dilate en modifiant sa structure. Dans la phase de repos qui se produit alors, la charpente nucléaire se montre constituée de granulations disposées en traînées plus ou moins nettes ; on voit en outre un grand nombre de corps de grosseur variable et semblables à des nucléoles (*Cycas* et *Ginkgo*, Ikéno; *Pinus*, Blackmann ; etc.). Chez *Pinus Laricio*, Chamberlain trouve dans le noyau, indépendamment de la linine, de grosses granulations contenant de la chromatine et qu'il compare aux nucléoles de *Spirogyra* et de *Corallina*. Ikéno suppose que ces corps sont semblables à ceux du *Ginkgo*.

Un seul anthérozoïde pénètre dans l'oosphère, le second se désorganise sur la face externe de l'oosphère chez *Cycas*, peut-être sans venir à son contact chez *Ginkgo* (Ikéno). Chez *Zamia*, deux et même trois anthérozoïdes peuvent s'introduire dans l'oosphère, mais un seul est utilisé (Webber).

Chez les Conifères, les deux cellules génératrices et les deux noyaux végétatifs (celui du tube pollinique et celui de la *Stielzelle*) se trouvent dans le tube pollinique qui a ici un rôle vecteur, et sont émis par l'extrémité de ce dernier. Tous ces noyaux ou cellules pénètrent dans l'oosphère et y persistent un temps plus ou moins long pour dégénérer ensuite à l'exception de l'un des noyaux mâles.

Miss Ferguson a constaté que parfois les noyaux végétatifs essayent de se diviser caryokinétiquement, mais la division avorte et est suivie d'une dégénérescence; le deuxième noyau mâle peut aussi se diviser amitotiquement. MURRILL (4) a observé un fuseau tripolaire au point où devait se trouver le second noyau mâle. Chez *Cephaloxatus*, ce noyau devient amiboïde avant de disparaître (Arnoldi). Chez *Larix dahurica*, il reste au contraire longtemps sans changement, même après la fécon-

(1) Cavara : *Osservationi morfologiche sulle Gimnosperme. Oogenesi nel Pinus Laricio.— Oogenesi nell' Abies pectinata* (Bull. Soc. bot. Ital., 1899 et 1900).

(2) Margareth Ferguson : *The development of the egg and fertilization in Pinus Strobus* (Ann. of Bot., t. 15, 1901).

(3) Coker : *Notes on the gametophytes and embryo of Podocarpus* (Bot. Gaz., t. 33, 1902).

(4) Murrill : *The development of the archegonium and fertilization of the Hemlock Spruce (Tsuga canadensis)* (Ann. of. Bot., t. 14, 1900).

Digitized by Google

dation ; les noyaux végétatifs ont depuis longtemps dégénéré (Wuicizki, 1). Coker a vu le noyau de la cellule du canal se diviser dans la cellule-œuf fécondée chez *Podocarpus*; dans un cas de non fécondation, le noyau de la cellule du canal et celui de l'oosphère se sont divisés amitotiquement.

Il résulte de tous ces travaux qu'un seul des noyaux mâles est utilisé et que le second finit toujours par dégénérer. L'anthérozoïde abandonne dans la partie supérieure du protoplasme de l'oosphère son propre protoplasme ainsi que le blépharoplaste et les cils, lorsqu'il en possède. Le noyau seul se dirige vers celui de l'oosphère. Mais il y a aussi fusion des protoplasmes comme le fait remarquer Webber.

Chez *Cycas*, le noyau femelle présente une dépression (*cavité d'imprégnation*), place désignée à l'avance pour recevoir le noyau mâle (Ikéno). Il n'en est pas de même pour le *Ginkgo* et les Conifères. Le noyau fécondant paraît s'accoler alors en n'importe quel point de la surface du noyau de l'oosphère ; mais il ne tarde pas à s'y enfoncer en s'y creusant d'abord une cavité.

Le noyau mâle est semblable au noyau femelle quoique plus petit ; mais il se remplit rarement de substance métaplasmatique comme ce dernier et renferme rarement de gros granules. Il pénètre petit à petit dans le noyau femelle, présentant parfois des pseudopodes, et se dissout dans l'intérieur de sa cavité. Ce mode de fusion signalé d'abord par Ikéno chez *Cycas*, a été retrouvé par lui chez *Ginkgo* et *Pinus densiflora* et décrit aussi par Webber chez *Zamia*, par Blackmann chez *Pinus silvestris*, par Jaeger (2) chez *Taxus baccata*, par Wuicizki chez *Larix dahurica*, par Arnoldi chez *Cephalotaxus Fortunei*. Ikéno considère ce processus de fécondation comme général chez les Gymnospermes. Miss Ferguson déclare que, dans *P. Strobus*, les éléments chromatiques des deux noyaux restent distincts jusqu'au moment de la formation de la plaque nucléaire de la première division ; on voit aussi à la seconde et même à la troisième mitose deux groupes chromatiques distincts qui semblent représenter les éléments mâles et femelles. Dans *P. Laricio*, on aperçoit, d'après Chamberlain, à l'intérieur du noyau de l'œuf, la chromatine des deux éléments sexuels formant deux masses séparées au moment où le réticulum plasmique entourant le noyau se transforme en fuseau. Murrill dit que, chez *Tsuga canadensis*, les deux noyaux ne se fusionnent pas et restent accolés jusqu'à la prophase de la première division, moment où l'on voit un fuseau multipolaire et où chacun des deux noyaux forme 12 chromosomes. Le fuseau devient bipolaire et la mitose se termine comme s'il n'y avait eu au début qu'un seul noyau à 24 chromosomes.

(1) Wuicizki : *A propos de la fécondation chez les Conifères* (en russe 1899, analysé dans Bot. Ztg. 1900).

(2) Jaeger : *Beiträge zur Kentniss der Endospermbildung und zur Embryologie von Taxus baccata* L. (Flora, 1899).

Digitized by Google

Le fuseau de cette division est oblique sur l'axe longitudinal ou même horizontal chez *Ginkgo*.

On admettait que la fécondation du *Ginkgo* n'avait lieu qu'après la chute des ovules. Hirase a démontré qu'elle se produit dans les ovules attachés à l'arbre. SEWARD et Miss GOWANN (1) sont du même avis et pensent avec Ikéno que la fécondation des ovules tombés sur le sol n'est pas formellement établie.

Fécondation chez les Angiospermes. Découverte de la double fécondation. — On sait, depuis les recherches de Guignard et de Strasburger, que le noyau primitif du sac embryonnaire donne naissance par trois bipartitions successives à 8 noyaux : 4 dans la partie supérieure, micropylaire, du sac possédant le nombre réduit typique de chromosomes, 4 dans la partie inférieure dont le nombre de chromosomes, au moins chez le Lis et autres plantes, est variable. Guignard a également montré que deux de ces noyaux, nommés par lui noyaux polaires, et appartenant l'un à la tétrade supérieure, l'autre à la tétrade inférieure, pouvant par conséquent différer l'un de l'autre par le nombre de chromosomes, s'unissent en un noyau, dit noyau secondaire, d'où proviendra l'albumen de la graine.

NAWASCHIN (2) annonça en 1898 que le noyau secondaire du sac embryonnaire s'unissait en outre à l'un des deux noyaux mâles émis par le tube pollinique. GUIGNARD (3) déclarait bientôt qu'il avait observé le phénomène et donnait des figures très probantes. L'albumen a donc une origine triple, puisqu'il dérive de l'union d'un noyau mâle avec deux noyaux du sac embryonnaire. Le tube pollinique déverse dans le sac deux noyaux fécondants identiques qui vont s'unir l'un avec le noyau de l'oosphère pour produire l'embryon, l'autre avec le noyau secondaire pour former l'albumen. C'est là ce que l'on appelle la *double fécondation*. Le phénomène a depuis lors été constaté dans un grand nombre d'espèces appartenant aux familles les plus variées (Liliacées, Amaryllidées, Orchidées, Naiadées, Graminées; Renonculacées, Nymphéacées, Malvacées, Résédacées, Crucifères, Gentianées, Solanées, Composées). Il est permis de le considérer comme général chez les Angiospermes et particulier à ce groupe de plantes.

NAWASCHIN (4) regarde les deux fécondations comme équivalentes.

(1) Seward et Miss Gowann : *The maidenhair-tree (Ginkgo biloba)* (Ann. of Bot., t. 14, 1900).

(2) Nawaschin : *Nouvelles considérations sur la fécondation chez Fritillaria tenella et Lilium Martagon* (en russe, Soc. Natur. Kiew, 1898, résumé dans Bot. Centralbl., 1899).

(3) Guignard : *Sur les anthérozoïdes et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes* (C. R. Ac. Sc., t. 128, 4 avril 1899, et Rev. gén. Bot., t. 11, 1899).

(4) Nawaschin : *Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei Lilium Martagon und Fritillaria tenella* (Bull. Ac. Sc. Pétersbourg, t. 9, 1899).

Digitized by Google

Ce serait là une sorte de polyembryonnie ; les deux embryons auraient seulement une destinée différente. GUIGNARD (1) ne les croit pas homologues et qualifie la fécondation du noyau secondaire de *pseudo-fécondation* (*fécondation végétative* de Strasburger).

La réalité de la double fécondation a reçu une sorte de confirmation des expériences de DE VRIES et de CORRENS. De Vries (2) féconde des Maïs à albumen sucré avec des Maïs à albumen amylacé. Il obtient des épis possédant les deux sortes de grains. Les grains sucrés proviennent d'une autofécondation. Mais les grains à amidon sont hybrides ; leur albumen est de même nature que celui du père. Ces hybrides semés et autofécondés ont donné des épis mixtes, formés d'un quart de grains sucrés et de trois quarts de grains amylacés. Il n'y a jamais de grains mixtes.

Correns (3) publie presque en même temps le résultat de ses longues expériences sur le Maïs. Le pollen étranger n'a d'influence que sur l'albumen. Tout ce qui n'est pas l'albumen demeure sans changement. L'influence étrangère se manifeste dans la couleur de l'albumen et la nature chimique des réserves que contient ce dernier. La grosseur et la forme du grain ne sont pas altérées.

WEBBER (4) a croisé aussi des Maïs à grains bleu-violets avec des Maïs jaunes. Il a obtenu des épis possédant les deux sortes de grains. Il se produit des grains mi-violets mi-jaunes et des grains bigarrés. L'auteur admet la possibilité du développement sans fécondation du deuxième noyau mâle et du noyau secondaire indépendamment l'un de l'autre ou encore l'union d'un noyau polaire avec un noyau mâle et le développement ultérieur de ce noyau fécondé et du second noyau polaire demeuré isolé. Ce sont là des hypothèses qui ont été critiquées.

Ces expériences montrent que le noyau mâle exerce une influence sur la constitution de l'albumen, mais ne fournissent pas de preuve positive de la copulation du noyau mâle et du noyau secondaire du sac embryonnaire. Cependant rapprochées des faits révélés par Nawaschin et Guignard, elles peuvent être considérées comme donnant de ceux-ci une démonstration expérimentale.

Les premiers travaux de Nawaschin sur *Lilium Martagon* et *Fritillaria tenella* et de Guignard sur *Lilium Martagon* et quelques autres espèces mettent en évidence trois groupes de faits :

1° Les deux noyaux mâles sortis du tube pollinique ont été vus libres

(1) Guignard : *Les découvertes récentes sur la fécondation chez les végétaux angiospermes* (Cinquantenaire Soc. Biologie, 1899).

(2) De Vries : *Sur la fécondation hybride de l'albumen* (C. R. Ac. Sc., 4 déc. 1899, et Rev. gén. Bot., t. 13, 1900).

(3) Correns : *Untersuchungen über die Xenien bei den Zea Mays* (Ber. deutsch. bot. Ges., 29 déc. 1899).

(4) Webber : *Xenia, or the immediate effect of pollen, in Maize* (U. S. Depart. Agric., Div. vég. physiol. u. pathol., 1900).

Digitized by Google

dans le sac embryonnaire. Ces noyaux sont alors allongés, tordus en une spirale qui peut former deux tours, diversement contournés en croissant, en crochet, en boucle, comme s'ils étaient animés de mouvements analogues à ceux d'un ver.

Guignard (l. c.) a essayé d'observer *in vivo* les mouvements de ces noyaux chez *Torenia* dont le sac embryonnaire est en grande partie saillant, mais les éléments sont trop petits pour qu'on puisse rien constater.

Strasburger (1) a examiné, dans de l'eau contenant 5 pour cent de sucre, des ovules vivants de *Monotropa hypopitys*. Il aperçoit des tractus protoplasmiques avec circulation active; mais les éléments mâles ne sont indiqués que par des renflements de ces tractus. Leur traversée semble rapide. L'auteur a été obligé de fixer et de colorer pour s'assurer que les anthérozoïdes se trouvaient bien là où il croyait les voir. Ils sont ovales, peu allongés et légèrement courbés.

Shibata (2) étudie dans les mêmes conditions, sur le vivant et en s'aidant de coupes colorées, l'ovule de *Monotropa uniflora*. Il ne distingue qu'avec difficulté les noyaux mâles. Leur structure est d'abord lâche et poreuse. Après leur entrée dans le sac embryonnaire, ils sont allongés (5 fois la largeur) et à courbure variable. Dès qu'ils se soudent au noyau femelle, ils s'arrondissent.

En résumé on n'a pu observer d'une façon positive sur le vivant les mouvements des anthérozoïdes des Angiospermes.

2° Les noyaux polaires du Lis et de la Fritillaire sont éloignés l'un de l'autre au moment de la fécondation. L'un des noyaux mâles (habituellement le premier qui pénètre dans le sac) s'accole au noyau polaire supérieur, parfois au noyau polaire inférieur. C'est là, d'après Guignard, une simple question de proximité. Le rapprochement des deux noyaux polaires se produit plus tard. Chez d'autres plantes, les noyaux polaires sont rapprochés ou même fusionnés avant l'arrivée du noyau mâle, parfois longtemps avant.

C'est là un fait d'une importance secondaire à en juger par les expériences de Shibata (l. c.) sur *Monotropa uniflora* (à Tokio). L'auteur avait opéré une pollinisation le 3 mai et constaté les premiers signes de la fécondation 10 jours après; les noyaux polaires étaient complètement fusionnés avant la copulation. Une deuxième pollinisation eut lieu le 1er juin; 7 jours après, on apercevait des indices de fécondation; les noyaux polaires n'étaient pas fusionnés au moment de l'approche du noyau mâle. L'auteur attribue cette différence à l'influence de la température.

3° Le noyau de l'oosphère se soude à l'un des noyaux mâles, mais il n'y a pas fusion des deux noyaux. Au moment de la première mitose,

(1) Strasburger : *Einige Bemerkungen zur Frage der « Doppelten Befruchtung » bei den Angiospermen* (Bot. Ztg, t. 58, 1900).

(2) Shibata : *Die Doppelbefruchtung bei Monotropa uniflora* (Flora, 1902).

Digitized by Google

les deux noyaux se divisent comme le ferait un noyau unique et dès lors on ne distingue plus les chromosomes mâles des chromosomes femelles. Mais jusqu'à ce moment, la distinction est nette, il n'y a pas de fusion au repos. Nawaschin et Guignard sont très affirmatifs sur ce point. Les choses se passent donc tout autrement que chez les Gymnospermes.

Quant au noyau triple, on peut voir le noyau mâle vermiforme, embrassant, l'un des noyaux polaires ou tortillé auprès de lui. A la première mitose, les chromosomes des trois noyaux se disposent en une plaque équatoriale unique, comme s'il s'agissait d'un seul noyau. La division de ce noyau secondaire d'où provient l'albumen précède celle de l'œuf, c'est-à-dire la formation de l'embryon. C'est le cas général, mais il existe des cas contraires, notamment *Naias* selon Guignard.

Les multiples travaux ultérieurs ne font que confirmer les premières descriptions de Nawaschin et de Guignard avec seulement des différences de détail.

Nawaschin (1) désirant établir la généralité de la double fécondation, a étudié des Dicotylédones (Renonculacées et Composées), des Monocotylédones sans albumen (Orchidées). Chez les Composées, les noyaux mâles sont vermiformes, longs, filamenteux et enroulés, à structure finement réticulée et poreuse dans *Helianthus*, plus épais et plus courts dans *Rudbeckia*. L'un d'eux s'unit au noyau secondaire, produit de la fusion complète des noyaux polaires. Chez les Orchidées (*Phajus Blumei*, *Arundina speciosa*), les trois noyaux se rapprochent sans se fusionner, ils dégénèrent plus tard sans produire d'albumen.

Strasburger (2) avait observé la fusion des noyaux polaires chez les Orchidées européennes. Aussi reprend-il cette étude dans *Himantoglossum hyrcinum*, *Orchis latifolia*, etc. Il confirme la fusion des noyaux polaires dans ces espèces. Le deuxième noyau mâle vient s'y adjoindre. Il y a tendance à la formation d'un albumen, mais bientôt le noyau triple perd ses nucléoles, devient homogène et disparaît ; l'œuf se nourrit de sa substance.

Guignard (3) a examiné un nombre considérable d'espèces et a retrouvé partout la double fécondation. Dans *Endymion nutans*, les deux noyaux polaires s'accolent longtemps avant la fécondation, mais

(1) Nawaschin : *Ueber die Befruchtungsvorgänge bei einige Dicotyledonen* (Ber. deutsch. bot. Ges., t. 18, 1900).

(2) Strasburger : *Einige Bemerkungen, etc.* (Bot. Ztg, t. 58, 1900).

(3) Guignard : *L'appareil sexuel et la double fécondation dans les Tulipes* (Ann. Sc. nat. Bot., 8e S., t. 11, 1900). — *Nouvelles recherches sur la fécondation chez les végétaux angiospermes* (C. R. Ac. Sc., t. 131, 1900). — *Sur la double fécondation chez les Solanées et les Gentianées* (C. R. Ac. Sc., t. 133, 1901). — *dans le Maïs — dans le Naias major — chez les Renonculacées* (tous trois dans Journ. de Bot., t. 15, 1901) — *chez les Solanées — chez les Crucifères* (tous deux dans Journ. de Bot., t. 16, 1902).

Digitized by Google

sans se fusionner. Les noyaux mâles sont ovoïdes, peu allongés, peu ou pas courbés, à structure interne poreuse. La copulation est très rapide. Chez les Tulipes, tandis que *T. Gesneriana* offre les caractères du Lis, *T. celsiana* et *T. silvestris* ne présentent presqu'aucune différenciation des 8 noyaux du sac embryonnaire. Les noyaux mâles sont incurvés, mais non tordus en spirale. Chez toutes les Renonculacées étudiées par l'auteur (nombreuses espèces), la fusion des noyaux polaires est complète avant la copulation. Comme particularités : antipodes très volumineuses, longtemps persistantes ; celles d'*Anemone nemorosa* possèdent plusieurs noyaux, alors que deux espèces voisines n'en montrent qu'un ; le tube pollinique peut se déverser dans une synergide ; après la fécondation, les synergides renferment de petits corps homogènes, sans doute des débris de leur noyau. Chez *Naias major*, il n'y a que 6 chromosomes ; la division de l'œuf précède celle du noyau secondaire fécondé, cas rare probablement en relation avec e fait que l'albumen n'existe jamais qu'à l'état de noyaux libres ; l'une des antipodes possède un gros noyau et se résorbe très tard. Guignard a observé un cas à deux embryons, le deuxième provenant de la fécondation d'une synergide ; le noyau secondaire non fécondé ne s'était pas divisé. Chez les Solanées (*Nicotiana, Datura*, etc.) les noyaux mâles sont relativement courts et faiblement incurvés, au lieu d'être allongés, vermiformes et fortement contournés comme ceux des Composées et de quelques Liliacées ; ils rappellent ceux des Renonculacées. Dans *Datura lævis*, la fusion des noyaux polaires est complète et le noyau secondaire n'a qu'un nucléole à plusieurs petites vacuoles, tandis que dans *Nicotiana Tabacum* ces noyaux ne sont pas fusionnés. La division du noyau secondaire fécondé est suivie d'un cloisonnement transversal du sac embryonnaire, ainsi que les divisions suivantes. Chez les Crucifères (*Capsella Bursa-pastoris, Lepidium sativum*), les noyaux mâles sont de petits corps ovoïdes : leur pénétration est très rapide ; au contact du noyau femelle, ils grossissent bientôt, surtout celui du noyau secondaire, et deviennent granuleux ; le cloisonnement de l'albumen est tardif ; l'embryon digère ce dernier à l'exception de l'assise périphérique, dite protéique, ainsi que l'avait décrit antérieurement l'auteur.

Le phénomène de la double fécondation a été observé en outre par Miss Thomas (1) chez *Caltha palustris*, la première Dicotylédone signalée, par Merrell (2) chez *Silphium*, par Land (3) chez *Erigeron*

(1) Miss Thomas : *Double fertilization in a Dicotyledon, Caltha palustris* Ann. of Bot., t. 14, 1900).

(2) Merrell : *A contribution to the life history of Silphium* (Bot. Gaz., t. 29, 1900).

(3) Land : *Double fertilization in Compositae* (Bot. Gaz., t. 30, 1900).

Digitized by Google

Philadelphicus et *Silphium laciniatum*, par IKEDA (1) chez une Liliacée du Japon (*Tricytris*), par ERNST (l. c.) chez *Paris* et *Trillium*.

Land signale, dans le tube pollinique des Composées qu'il a étudiées et après l'émission des anthérozoïdes, deux corpuscules irrégulièrement arrondis ou allongés, fortement érythrophiles, provenant peut-être de la division du noyau végétatif. Shibata (l. c.) retrouve des corpuscules analogues chez *Monotropa uniflora*.

CHODAT (2) a constaté, chez *Parnassia palustris*, la présence d'un sac embryonnaire renfermant deux oosphères, quatre synergides, trois noyaux polaires et trois antipodes, à la suite de la division du noyau polaire inférieur. Les noyaux polaires sont doués d'une chromatophilie de caractère femelle. L'auteur tire de ces deux faits la conclusion que physiologiquement la double fécondation est possible.

(1) Ikéda : *Studies on the physiological functions of antipodale, etc.*, I. (Bull. Coll. Agric. Imp. Univ., Tokyo, t. 5, 1902).

(2) Chodat : *Possibilité physiologique de la double fécondation chez Parnassia palustris* (Bull. Herb. Boissier, t. 5, 1902).

(*A suivre*). H. RICÔME.

Digitized by Google

TABLE DES ARTICLES ORIGINAUX

Pages

Sur un hybride de greffe entre Poirier et Coignassier (avec huit figures dans le texte), par M. Lucien Daniel . . . 5

Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques (avec sept planches, Pl. 1 à 7), par M. J. Laurent.

Introduction 14

Historique. 15

I. Stérilisation des graines 28

II. Méthodes de culture en milieux liquides stérilisés 35

III. Absorption et utilisation de diverses substances organiques :

1° Recherches sur le glucose . . . 38, 66

2° Recherches sur l'amidon. . . . 76, 96

3° Recherches sur la dextrine 103

4° Recherches sur la saccharose . . . 104

5° Recherches sur la glycérine. . . . 110

6° Recherches sur l'humus 112

IV. Influence des matières organiques sur la croissance et la morphologie externe de la plante 120, 155

V. Modifications de structure anatomique provoquées par les matières organiques. . . . 188

VI. Quelques applications à l'agriculture 231

Résumé général et Conclusions 238

Contribution à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes (avec quatorze figures dans le texte et deux planches, Pl. 8 et 9), par M. A. Guilliermond 49

Digitized by Google

Pages

Observations sur la structure des glandes pétiolaires d'*Hevea brasiliensis* (avec trois figures dans le texte), par MM. A. Daguillon et H. Coupin 81

Une coléoptérocécidie nouvelle sur *Salix capræa*, type de cécidies facultatives (avec douze figures dans le texte), par M. Marin Molliard. 91

Recherches sur la kariokinèse chez les Ascomycètes (avec deux planches, Pl. 14 et 15), par M. A. Guilliermond. . 130

Influence de la culture en serre sur quelques plantes des environs de Paris (avec quatre planches, Pl. 10 à 13), par M. J. Bédélian . . . . . .

Introduction 144

I. Morphologie externe 147
II. Structure du limbe de la feuille 242, 265
III. Structure du pétiole 272
IV. Structure de la tige 278
V. Structure du pédoncule floral 284
VI. Structure de la racine 290
VII. Développement 318
Conclusions 332

Observations sur la germination et la formation de la première racine de quelques Palmiers (avec sept figures dans le texte), par M. L. Gatin 177

Forme conidienne et sclérotes de *Morchella esculenta* Pers. (avec une planche, Pl. 16), par M. Marin Molliard) . . 209

Sur un *Streptothrix*, cause de l'altération des avoines moisies (avec une planche, Pl. 17), par M. D. Brocq-Rousseu . . 219

Sur une acrocécidie de *Veronica Chamædrys* (avec quinze figures dans le texte), par M. A. Daguillon 257

Influence d'une faible pression d'oxygène sur la structure anatomique des plantes (avec onze figures dans le texte), par M. Jean Friedel. 305

Recherches physiologiques sur les matières de réserves des arbres (avec quatorze figures dans le texte), par M. Leclerc du Sablon.

Digitized by Google

Pages

I. Méthodes 341
II. Réserves hydrocarbonées des tiges et des racines 351
III. Réserves hydrocarbonées des feuilles. . . . 366
IV. Azote des racines, des tiges et des feuilles . . 386
V. Matières grasses 392
VI. Eau 395

Conclusions 399

Un cas de staminodie du pistil chez *Lonicera Periclymenum* L. (avec dix-neuf figures dans le texte), par M. A. Daguillon 373

Recherches expérimentales sur les Orchidées (avec treize figures dans le texte et deux planches, Pl. 18 et 19), par M. Noël Bernard. 405

I. Méthodes de culture 406
II. Le champignon endophyte 409
III. La germination des Orchidées 418
IV. Les semis horticoles 458
V. Résumé. 464
VI. Remarques théoriques 465

La Passiflore parasite sur les racines du Fusain (avec trois figures dans le texte), par M. E. Pée-Laby 453

Digitized by Google

TABLE DES REVUES

DES TRAVAUX FRANÇAIS ET ÉTRANGERS

Pages

Revue des travaux d'anatomie parus de 1897 à 1902 (avec figures dans le texte), par M. H. Ricôme

I. La cellule. Les phénomènes intimes de la reproduction.

1. Structure du protoplasme. 167
2. Communications protoplasmiques . . 169
3. Noyau au repos. 174
4. Noyau et membrane cellulaire . . . 175
5. Noyau et digestion 203
6. Division indirecte. Réduction chromatique 204, 249
7. Réduction chromatique dans l'anthère 251
8. Réduction chromatique dans l'ovule . 253
9. Réduction chromatique dans le sporange des Cryptogames vasculaires . . . 295
10. Fuseau achromatique 295
11. Nucléole 301
12. Centrosome et sphère directrice . . 303, 369
13. Division directe du noyau. Divisions irrégulières 369
14. Anthérozoïdes des Cryptogames vasculaires 402
15. Découverte des anthérozoïdes chez les Gymnospermes 477
16. Fécondation chez les Cryptogames vasculaires 481
17. Fécondation chez les Gymnospermes . 482
18. Fécondation chez les Angiospermes. Découverte de la double fécondation 485

Digitized by Google

TABLE DES PLANCHES

CONTENUES DANS LE TOME SEIZIÈME

PLANCHE 1. Appareils pour cultures en milieux stérilisés.

PLANCHE 2. Pois (Detmer et glucose).

PLANCHE 3. Pois (Glycérine; obscurité).

PLANCHE 4. Pois (Detmer, Na Cl et Az O^3 K).

PLANCHE 5. Pois (Glycérine et glucose).

PLANCHE 6. Cultures de Pois à l'obscurité (Detmer, glycérine et glucose).

PLANCHE 7. Lentille et Maïs (Detmer, glycérine et glucose).

PLANCHE 8. *Aleuria cerea; Helvella sulcata; Ciboria uliginosa; Peziza venosa; Peziza (species).*

PLANCHE 9. *Aleuria cerea; Otidea onotica.*

PLANCHE 10. *Plantago lanceolata; Capsella Bursa-pastoris; Erodium cicutarium; Hieracium Pilosella.*

PLANCHE 11. *Plantago lanceolata; P. media; Capsella Bursa-pastoris.*

PLANCHE 12. *Plantago media; Bellis perennis; Plantago lanceolata.*

PLANCHE 13. *Erodium cicutarium; Plantago major.*

PLANCHE 14. *Peziza Catinus; Pustularia vesicolosa; Peziza rutilans.*

PLANCHE 15. *Peziza rutilans.*

PLANCHE 16. *Morchella esculenta.*

PLANCHE 17. *Streptothrix Dassonvillei.*

PLANCHE 18. Cultures d'Orchidées.

PLANCHE 19. *Cypripedium.*

Digitized by Google

TABLE DES ARTICLES ET DES REVUES

PAR NOMS D'AUTEURS

Pages

BEDELIAN (J.). Influence de la culture en verre sur quelques plantes des environs de Paris 144, 242, 265, 318

BERNARD (Noël). Recherches expérimentales sur les Orchidées 405, 458

BROCQ-ROSSEU (D.). Sur un *Streptothrix*, cause des altérations des avoines moisies 219

COUPIN (H.) (Voyez Daguillon).

DAGUILLON (Aug.). Sur une acrocécidie de *Veronica Chamædrys* 257

— Un cas de staminodie du pistil chez *Lonicera Periclymenum* L. 373

— et COUPIN (H). Observations sur la structure des glandes pétiolaires d'*Hevea brasiliensis* 81

DANIEL (Lucien). Sur un hybride de greffe entre Poirier et Coignassier 5

FRIEDEL (Jean). Influence d'une faible pression d'oxygène sur la structure anatomique des plantes . . 305

GATIN (C. L.). Observation sur la germination et la formation de la première racine de quelques Palmiers 177

GUILLIERMOND (A). Contribution à l'étute de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes. 49

— Recherches sur la karyokinèse chez les Ascomycètes 130

Digitized by Google

Pages

LAURENT (J.). Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques 14, 66, 96 155, 188, 231

LECLERC DU SABLON (M.). Recherches physiologiques sur les matières de réserves des arbres 341, 386

MOLLIARD (Marin). Une coléoptérocécidie nouvelle sur *Salix Capræa*, type de cécidies facultatives . 91

— Forme conidienne et sclérotes de *Morchella esculenta* Pers. 209

PÉE-LABY (E.). La Passiflore parasite sur les racines du Fusain 453

RICÔME (H.). Revue des travaux d'anatomie parus de 1897 à 1902 . . . 167, 203, 249, 294, 369, 402, 477

Digitized by Google

TABLE ALPHABÉTIQUE

DES NOMS D'AUTEURS DONT LES TRAVAUX ONT ÉTÉ ANALYSÉS DANS LES REVUES DES TRAVAUX FRANÇAIS ET ÉTRANGERS

Explication des abréviations : (*a*) Revue des travaux d'anatomie.

A

Pages

Allen (*a*) 300
Andrews (*a*). 249
Arnoldi (*a*) 172, 482
Atkinson (*a*). 249

B

Belajeff (*a*) 208, 402
Bernard (Charles) (*a*) . . . 304
Bessey (*a*) 478
Blachmann (*a*) . . . 256, 482
Blazek (*a*). 370
Bouin (M. et P.) (*a*). . . . 168
Boubier et Chodat (*a*) . . . 173
Buscalioni (*a*) . . . 175, 370
Buscalioni et Pirotta . . . 371
Byxbee (*a*) 299

C

Calkins (*a*) 208, 295
Cavara (*a*) 302, 483
Chamberlain (*a*). . . 302, 482
Chodat (*a*) 490
Chodat et Boubier (*a*) . . . 173
Coker (*a*). 483
Correns (*a*) 486
Coulter (*a*) 304

D

Debski (*a*) 301
Dixon (*a*). 249, 250
Duggar (*a*) 253, 299

E

Ernst (*a*) 204

F

Pages

Ferguson (Miss Margaret) (*a*) 172, 300, 483
Frye (*a*) 253
Fujii (*a*) 478
Fulmer (*a*) 297, 300

G

Gager (*a*). 253
Gardiner (*a*). 169
Gardner (Blanche) (*a*) . . . 302
Gerassimof (*a*) 175
Gœbel (*a*). 171, 295
Gowann (Miss) (*a*). . . . 485
Grégoire (*a*) 303
Guignard (*a*) 205, 253, 299, 303, 485, 486, 488

H

Haberlandt (*a*) 168
Harper (*a*) 303
Hartog (*a*) 205
Hertwig (*a*) 302
Hill (*a*). 169
Hirase (*a*). 477, 478
Hirase et Ikeno (*a*) 477
Hof (*a*). 174, 297
Hofmeister (*a*) 477
Hottes (*a*). 168
Huie (Miss Lily) (*a*) . . . 203

I

Ikéda (*a*) 490
Ikeno (*a*). . . . 172, 477, 478
Ikeno et Hirase (*a*). . . . 477
Ishikawa (*a*). 252

Digitized by Google

J

Pages

Jaeger (*a*). 484
Juel (*a*) . 252, 254, 256, 300, 370

K

Karsten (*a*) 170
Kienitz-Gerloff (*a*) 174
Kny (*a*) 170
Koernicke (*a*) . . . 173, 255
Kohl (*a*) 170, 174
Kuhla (*a*). 169

L

Land (*a*) 489
Lang (*a*) 478
Lawson (*a*) 299
Lloyd (*a*). 251
Longo (*a*). 175, 302

M

Maire (*a*). 168
Matruchot (*a*) 168
Matruchot et Molliard (*a*). . 204
Merrell (*a*) 489
Meves (*a*). 295, 369
Miehe (*a*) 173
Mitzkewitsch (*a*) 301
Miyake (*a*) 478
Molisch (*a*) 174
Molliard et Matruchot (*a*). . 204
Mottier (*a*). 206, 207, 252, 253, 298
Mottier et Strasburger (*a*) . 207
Müller (Otto) (*a*). 170
Murbeck (*a*). 251
Murrill (*a*) . . . 172, 300, 483

N

Nathansohn (*a*) 369
Nawaschin (*a*) . . 481, 485, 488
Nemec (*a*) 168, 204, 255, 296, 304, 372

O

Osterhout (*a*). . . . 298, 301
Osterwalder (*a*) 304

P

Pages

Paratore (*a*) 302
Pfeffer (*a*). 369
Pirotta et Buscalioni (*a*) . . 371

R

Rosenberg (*a*) . . 203, 251, 371

S

Sargant (*a*) 206
Schaffner (*a*). 297
Shibata (*a*) 487
Schniewind-Thies (*a*) . . . 254
Schmitt (Wilson) (*a*) . . . 299
Schütt (*a*). 170
Schwingle (*a*) 303
Seward et Miss Gowann (*a*) . 485
Shaw (*a*) 403, 481
Stevens (*a*) 208, 295
Strasburger (*a*) 167, 169, 205, 206, 250, 252, 253, 295, 297, 301, 303, 487, 488.
Strasburger et Mottier (*a*). . 207

T

Thom (*a*) 482
Thomas (Miss) (*a*) 489
Tischler (*a*) 371
Townsend (*a*) 175
Tswett (*a*) 173

V

Vries (de) (*a*). 486

W

Wasielewski (*a*). 369
Webber (*a*) . . . 477, 478, 486
Wiegand (*a*). . . . 251, 254
Williams (*a*) 299
Wisselingh (Van) (*a*) . 174, 301
Wuicizki (*a*). 484

Y

Yamanouchi (*a*). 304

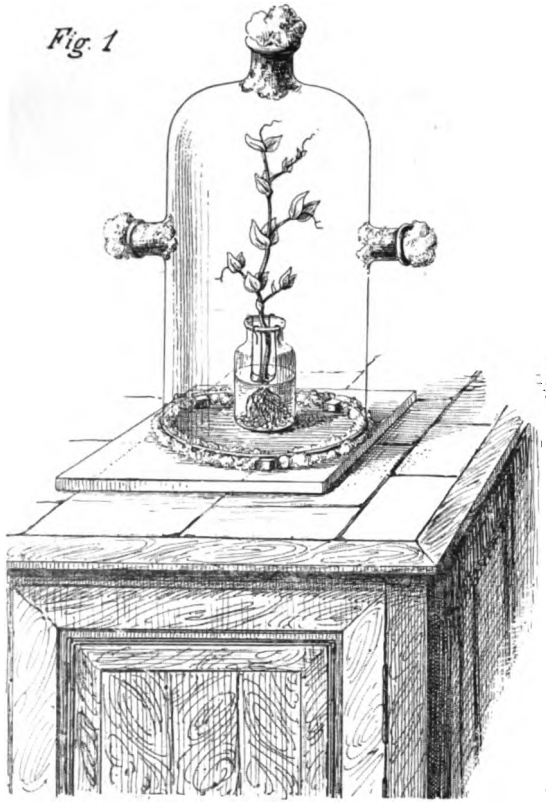
Z

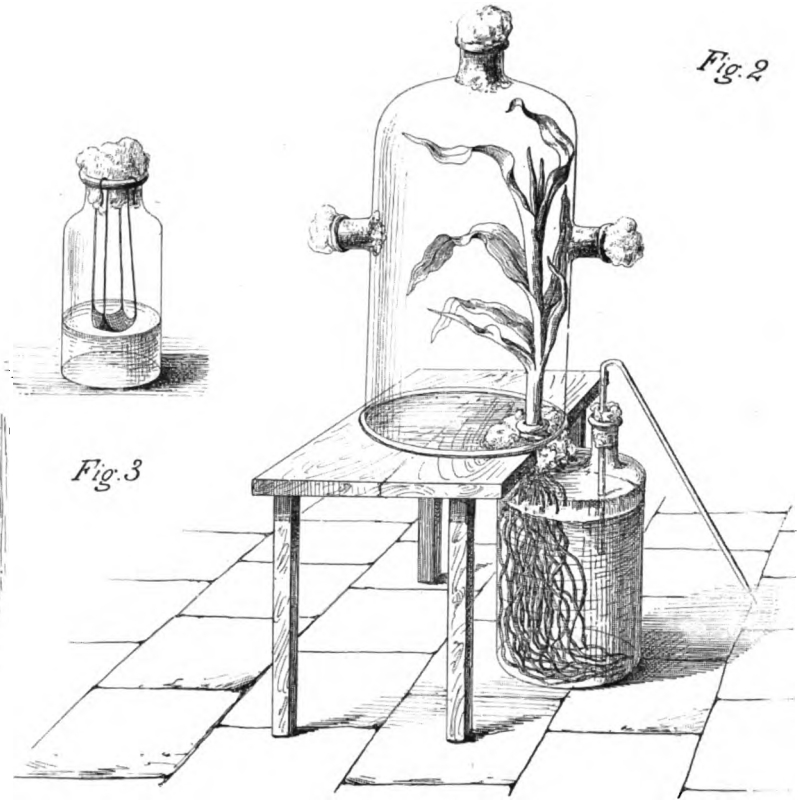
Zacharias (*a*). . . . 168, 404

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

Digitized by Google



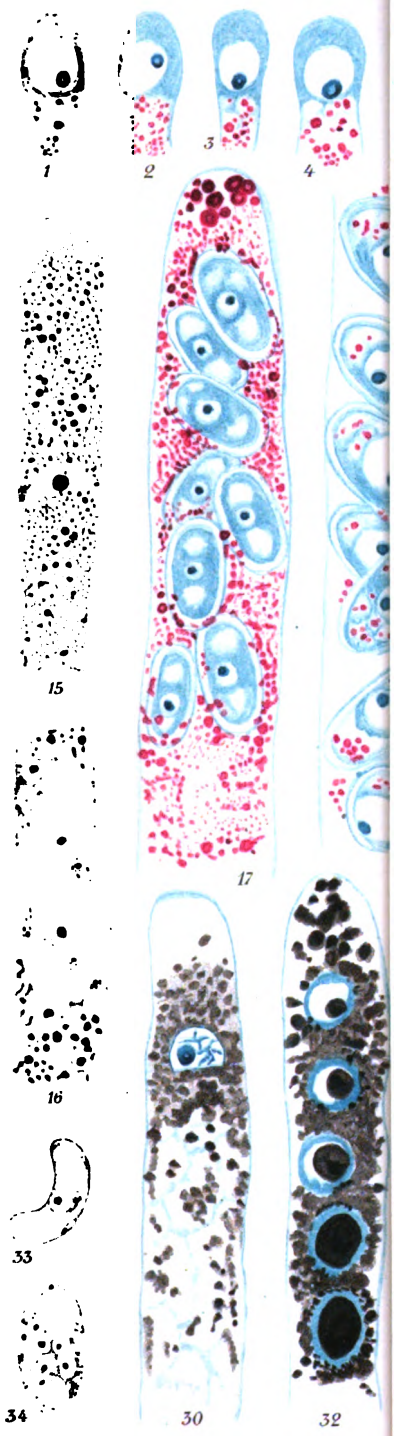


M. E. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Appareils pour cultures en milieux stérilisés.

Digitized by Google

Digitized by Google

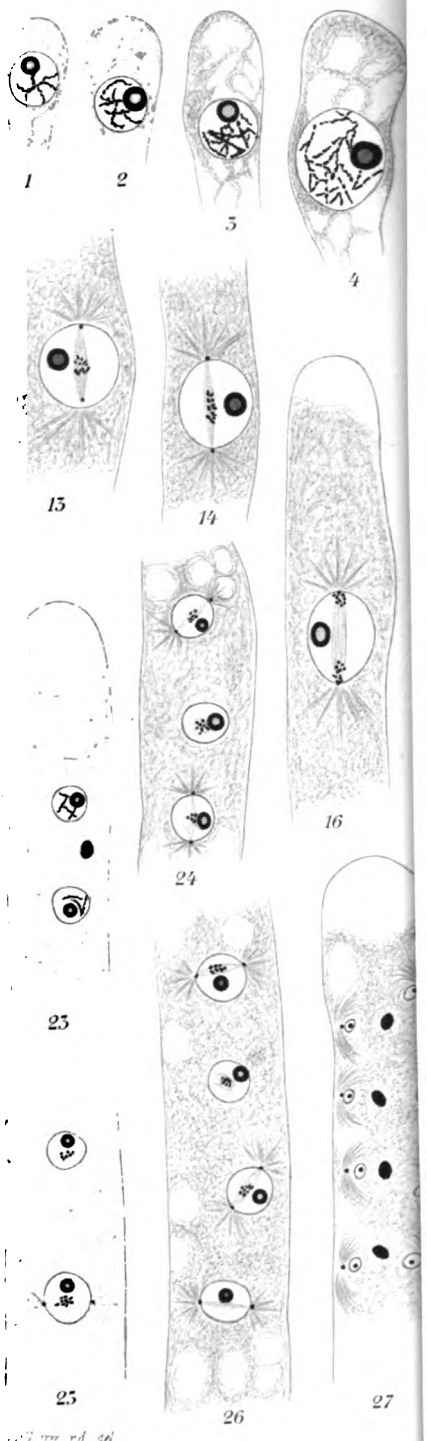


Guillermond del.

Alex

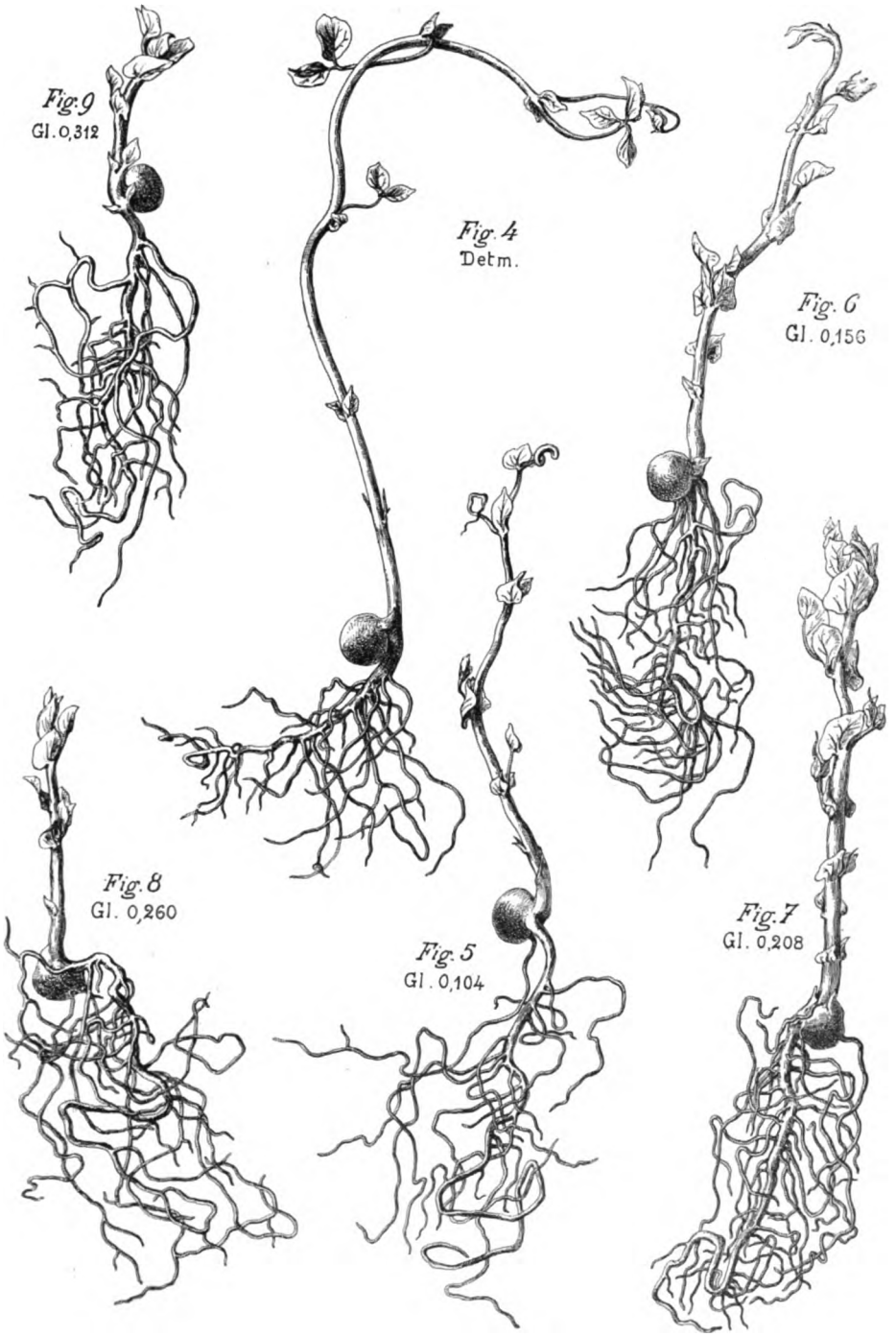
Digitized by Google

Digitized by Google



Digitized by Google

Digitized by Google

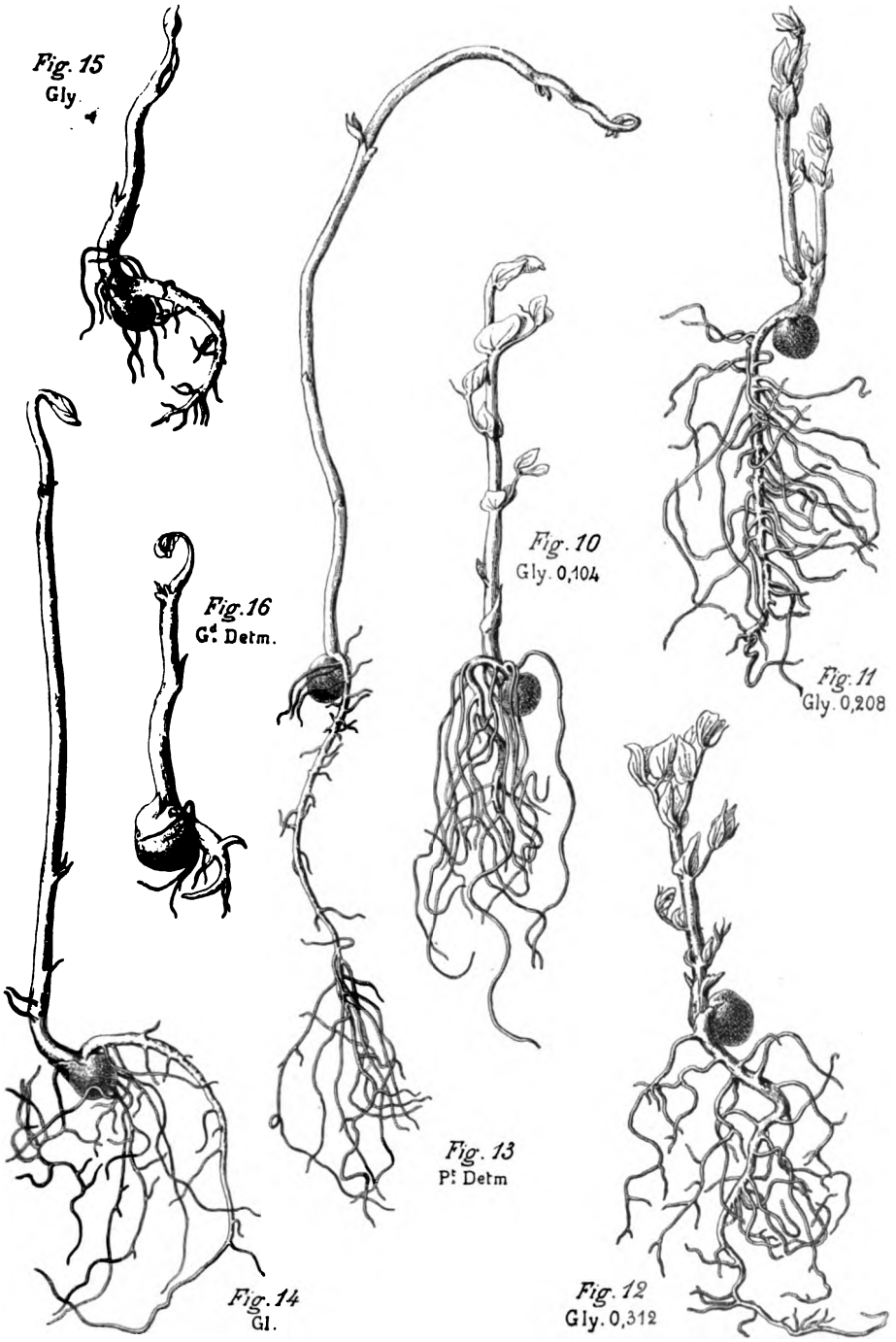


M. E. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Pois
(4, Detmer; 5 à 9, glucose).

Digitized by Google

Digitized by Google



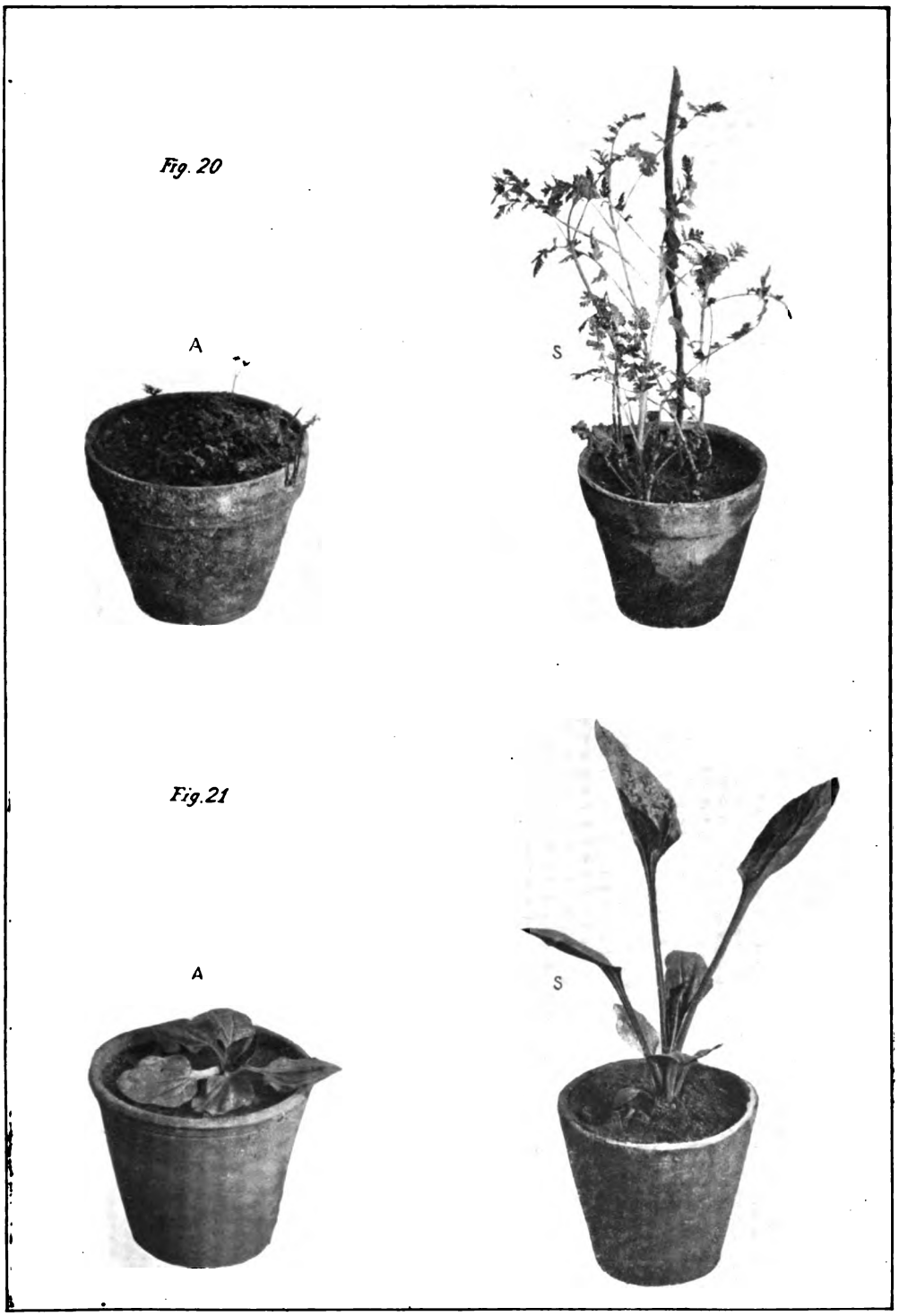
M. E. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Pois

(10 à 12, glycérine ; 13 à 16, obscurité).

Digitized by Google

Digitized by Google



J. Bédélian del. *Imp. Le Bigot Frères.* *J. Poinsot sc.*

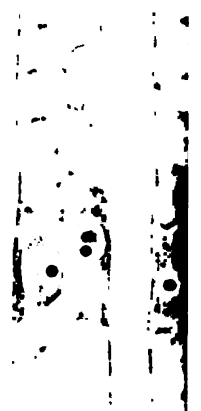
***Erodium cicutarium* (20); *Plantago major* (21).**

Digitized by Google

Digitized by Google

1

6 7



11

Guillermond del

Digitized by Google

Digitized by Google

1

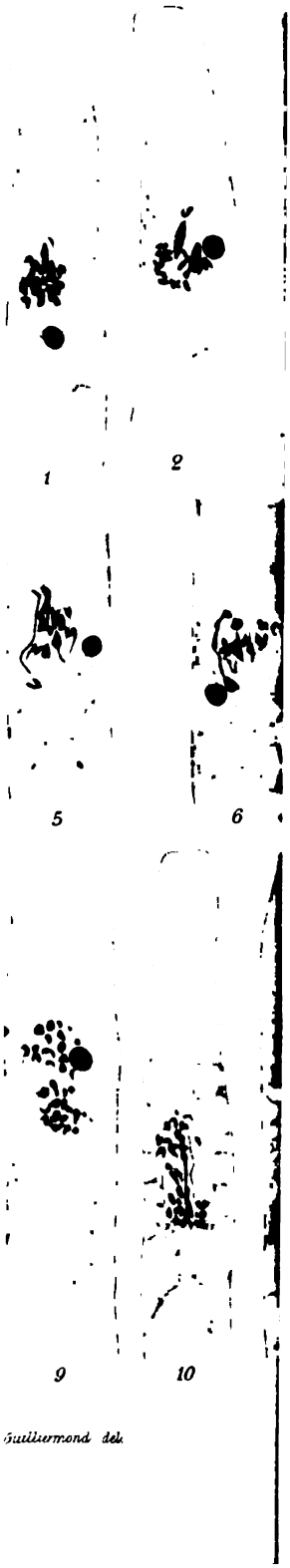
6 7

11

Guillermond del

Digitized by Google

Digitized by Google



Guilliermond del.

Digitized by Google

Digitized by Google

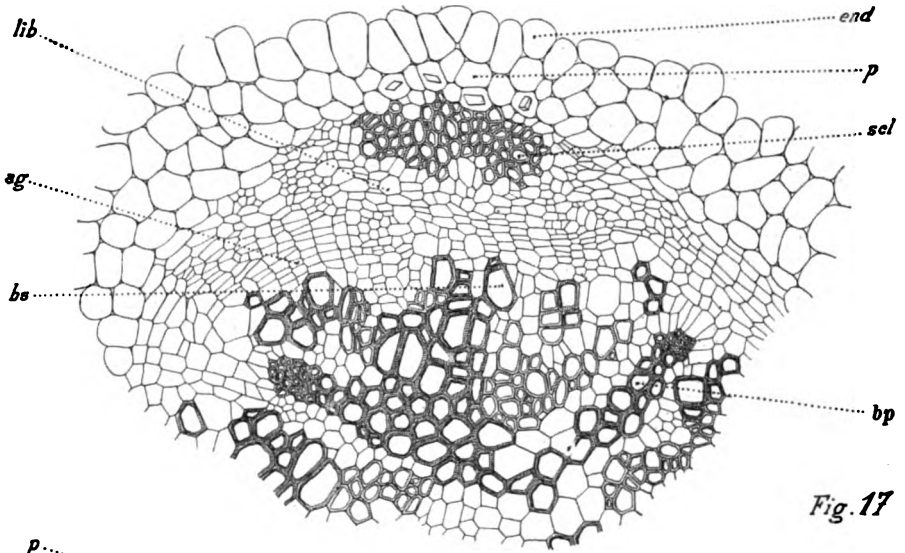


Fig. 17

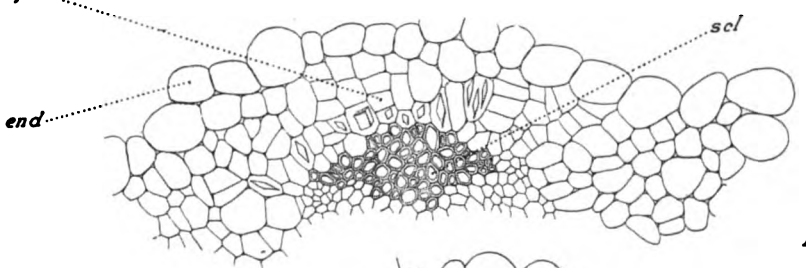


Fig. 18

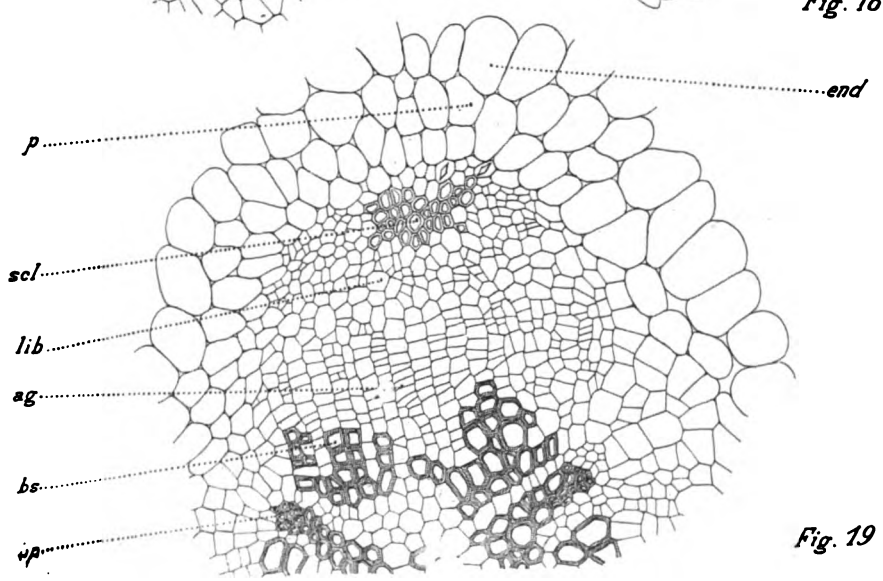


Fig. 19

J. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Pois

(17, Detmer; 18, Na Cl; 19, Az O³ K).

Digitized by Google

Digitized by Google

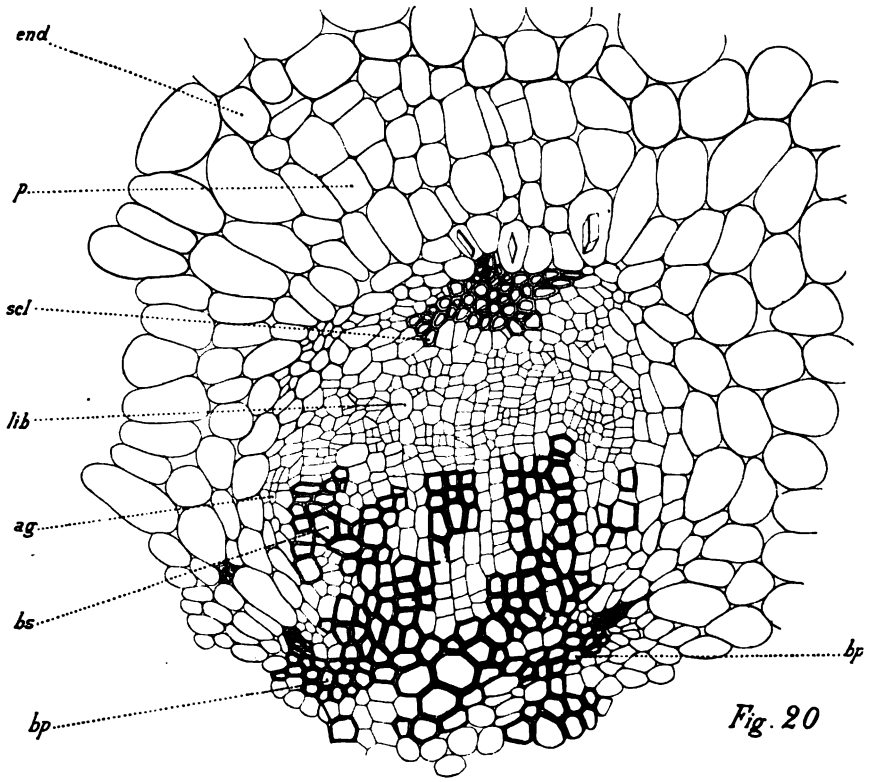


Fig. 20

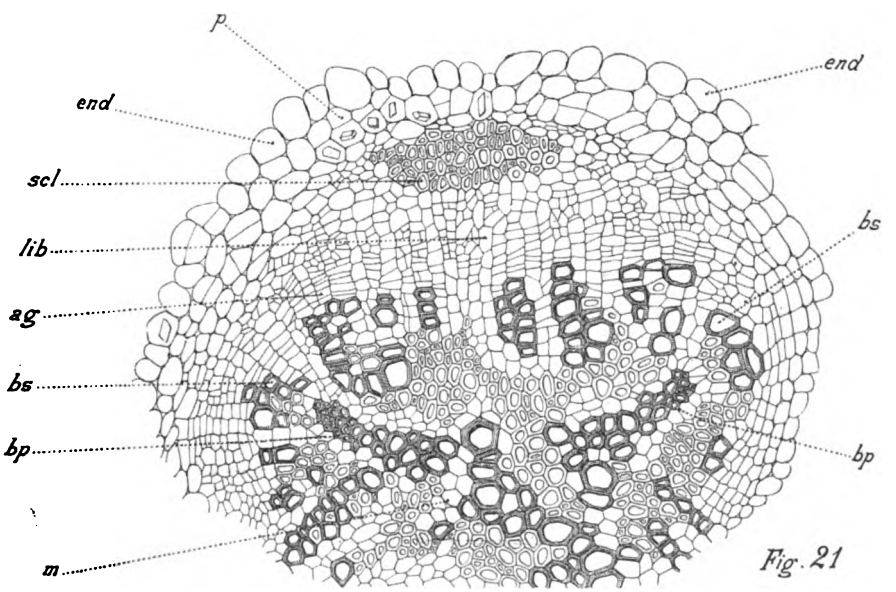


Fig. 21

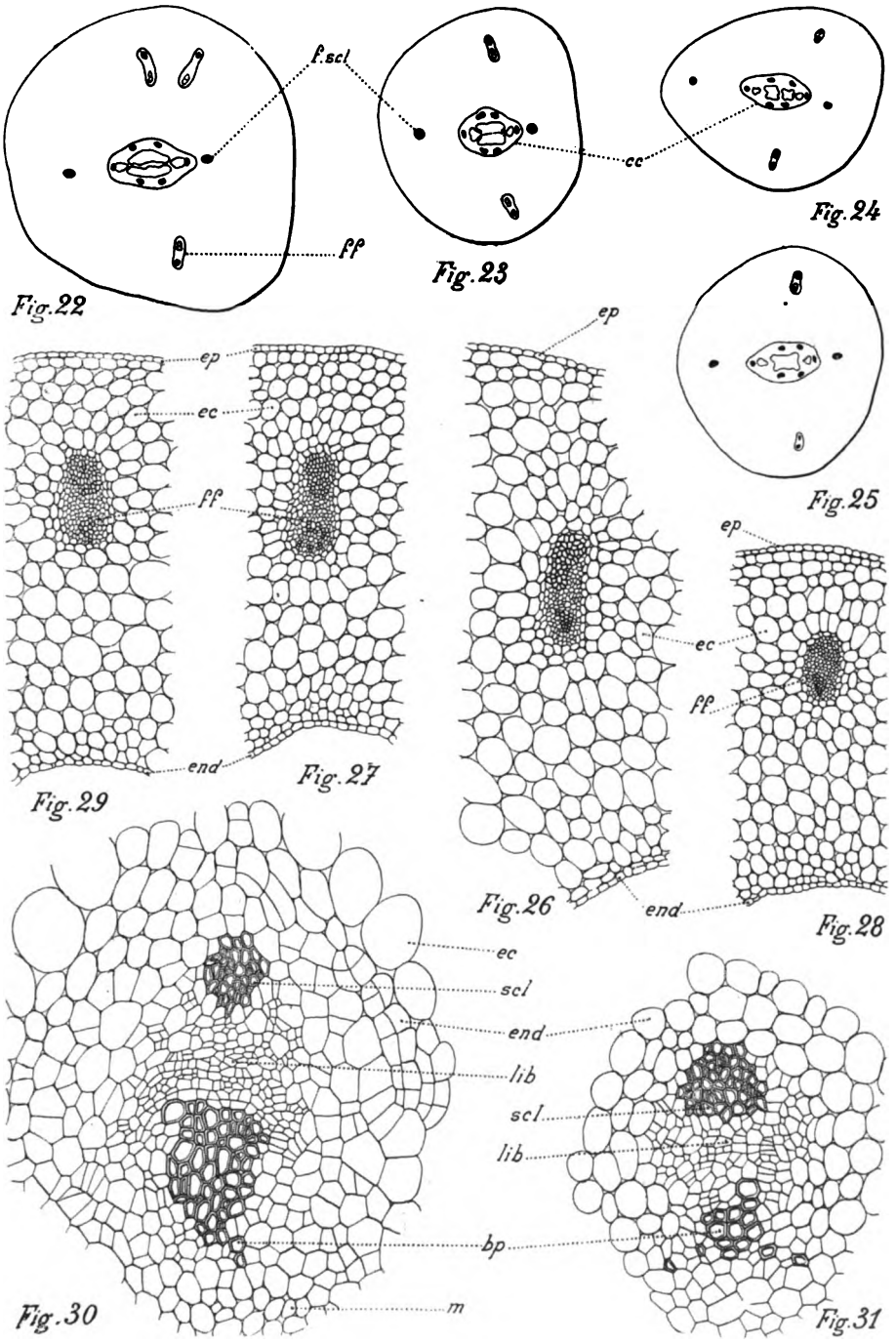
J. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Pois

(20, glycérine; 21, glucose).

Digitized by Google

Digitized by Google

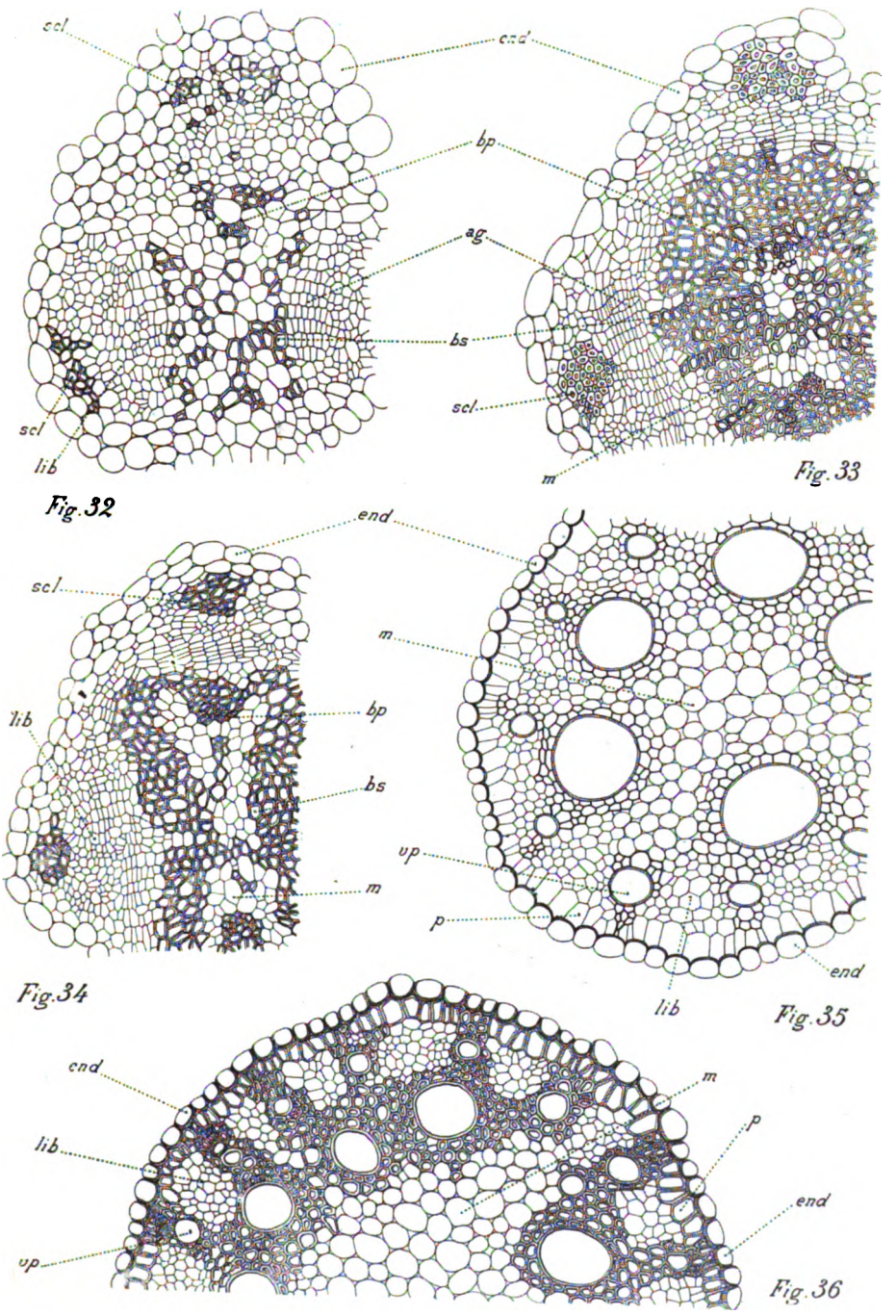


J. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Cultures de Pois à l'obscurite
(24, 28, 31, Detmer, petites graines ; 22, 26, 30, glycérine ; 23, 27, glucose ; 25, 29, Detmer, grosses graines).

Digitized by Google

Digitized by Google



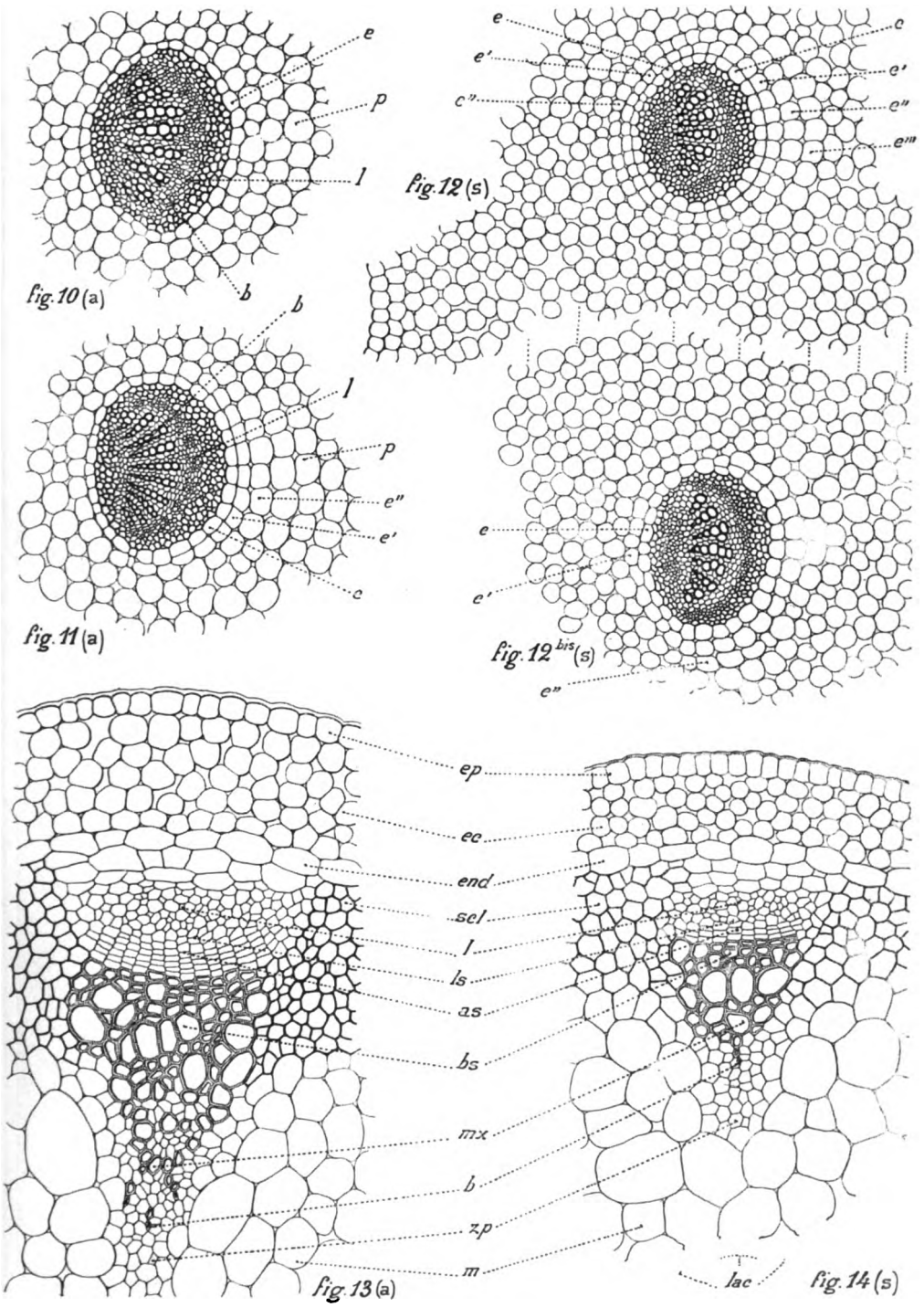
J. Laurent del. *Imp. Le Bigot.* *J. Poinsot sc.*

Lentille et Maïs

(34 et 35, Detmer; 32 et 36, glycérine; 33, glucose).

Digitized by Google

Digitized by Google

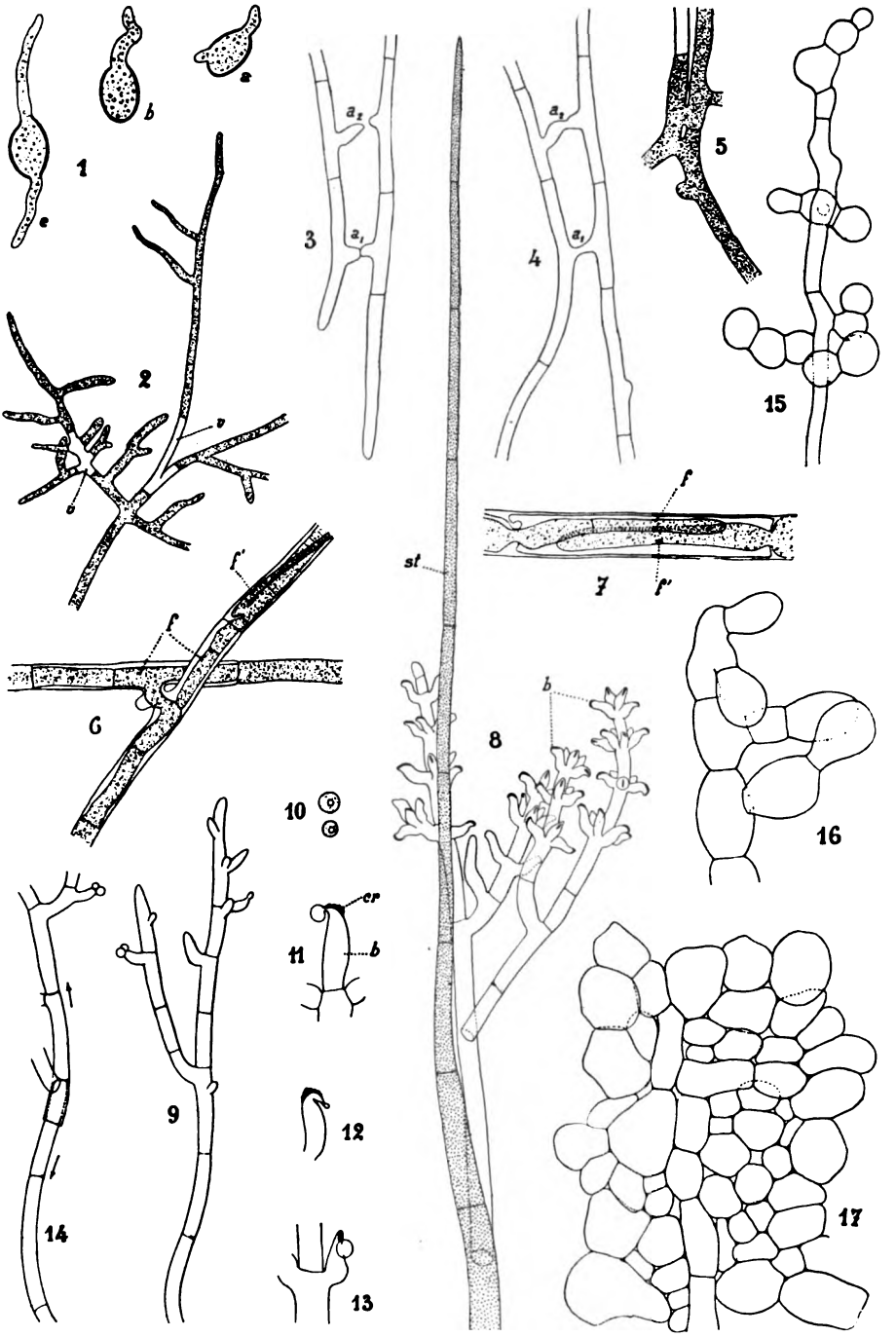


J. Bédélian del. *Imp. Le Bigot Frères.* *J. Poinsot sc.*

Plantago lanceolata (10, 12 et 12bis); P. media (11); Capsella Bursa-pastoris (13 et 14).

Digitized by Google

Digitized by Google

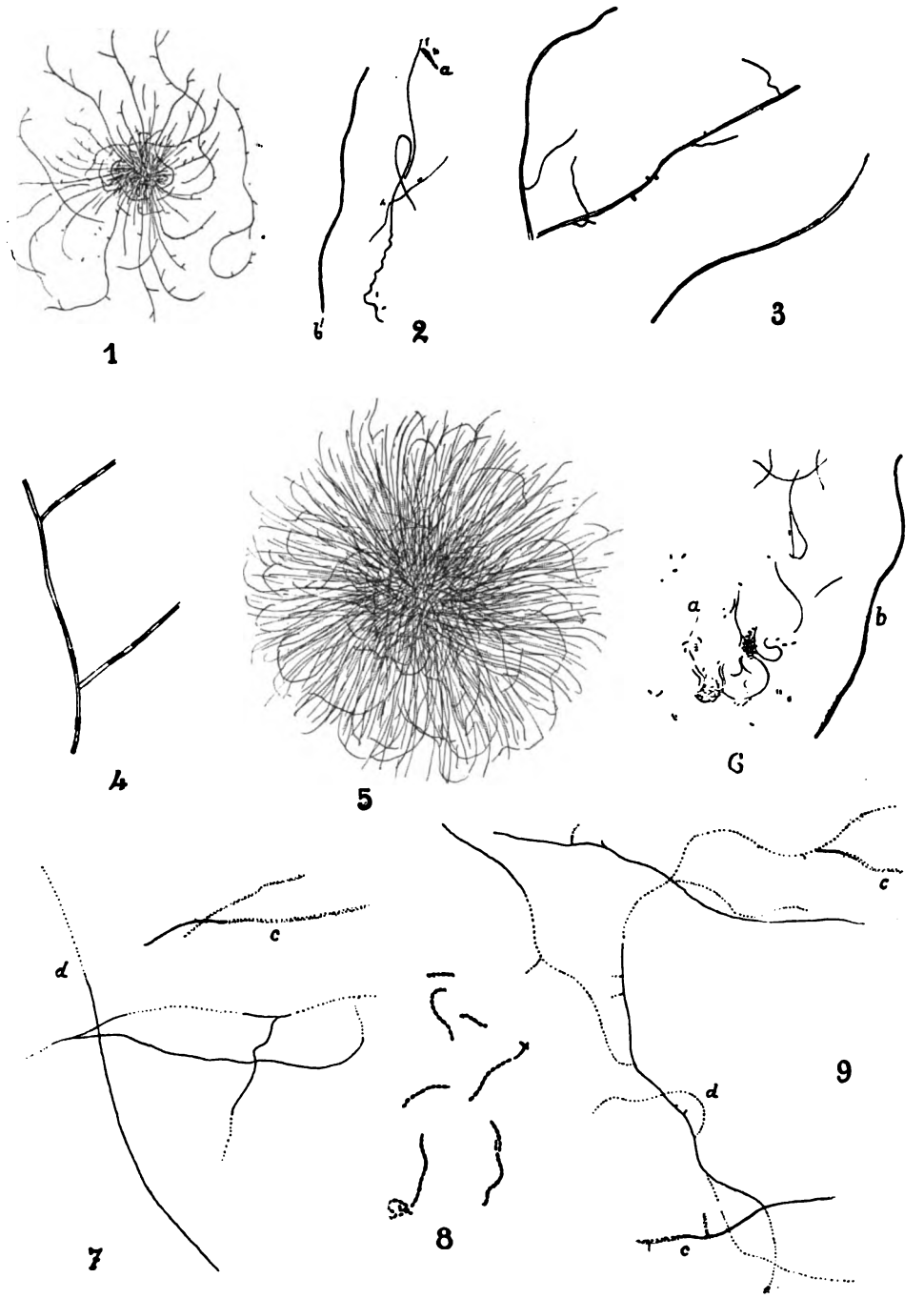


Molliard del. *Imp. Le Bigot.* *Bertin sc.*

MORCHELLA ESCULENTA.

Digitized by Google

Digitized by Google

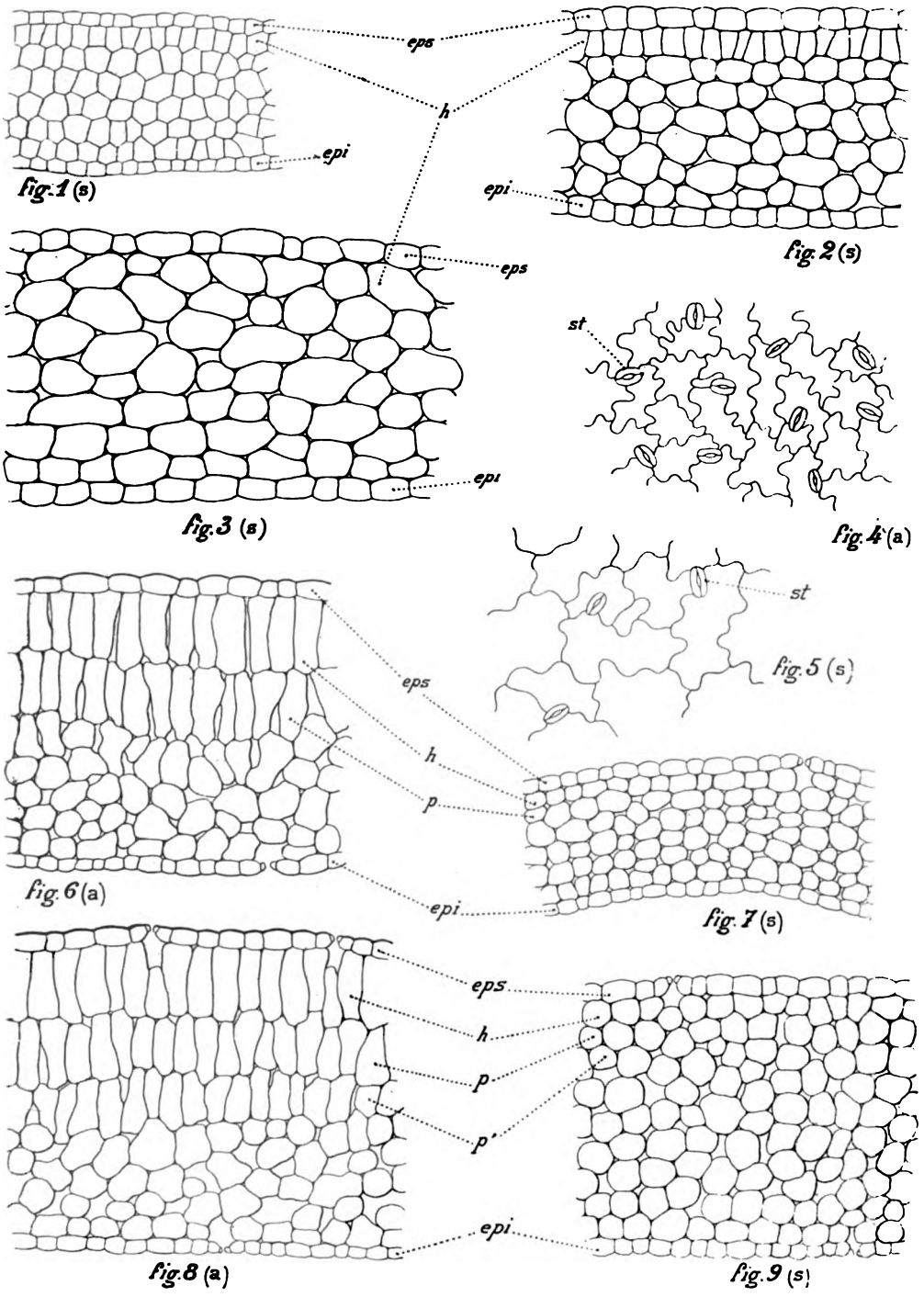


Brocq-Rousseu del. *Imp. Le Bigot.* *Berlin sc.*

Streptothrix Dassonvillei

Digitized by Google

Digitized by Google

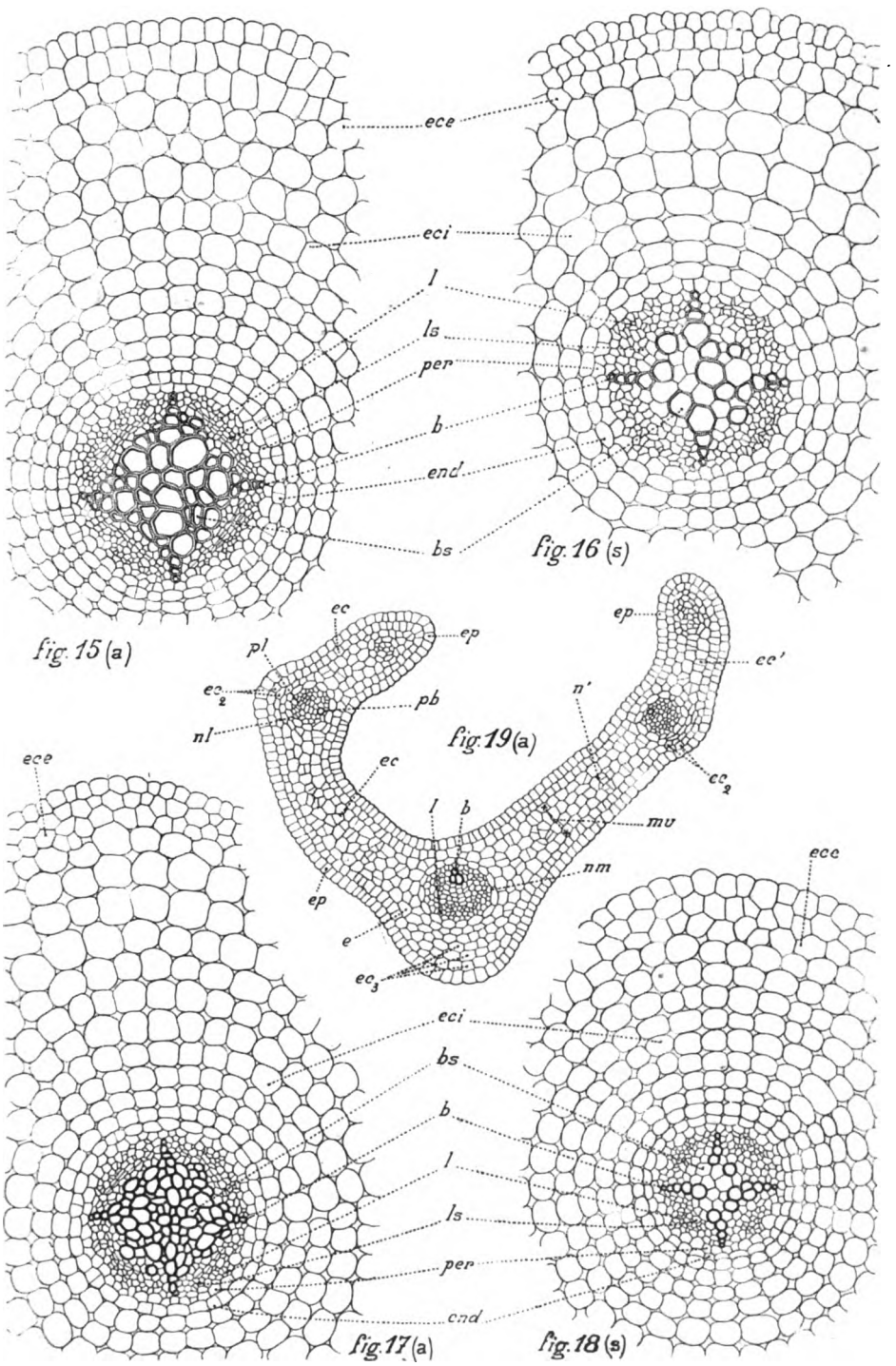


J. Bédélian del. *Imp. Le Bigot Frères.* *J. Poinsot, sc*

Plantago lanceolata (1 à 3); Capsella Bursa-pastoris (4 et 5); Erodium cicutarium (6 et 7); Hieracium Pilosella (8 et 9).

Digitized by Google

Digitized by Google



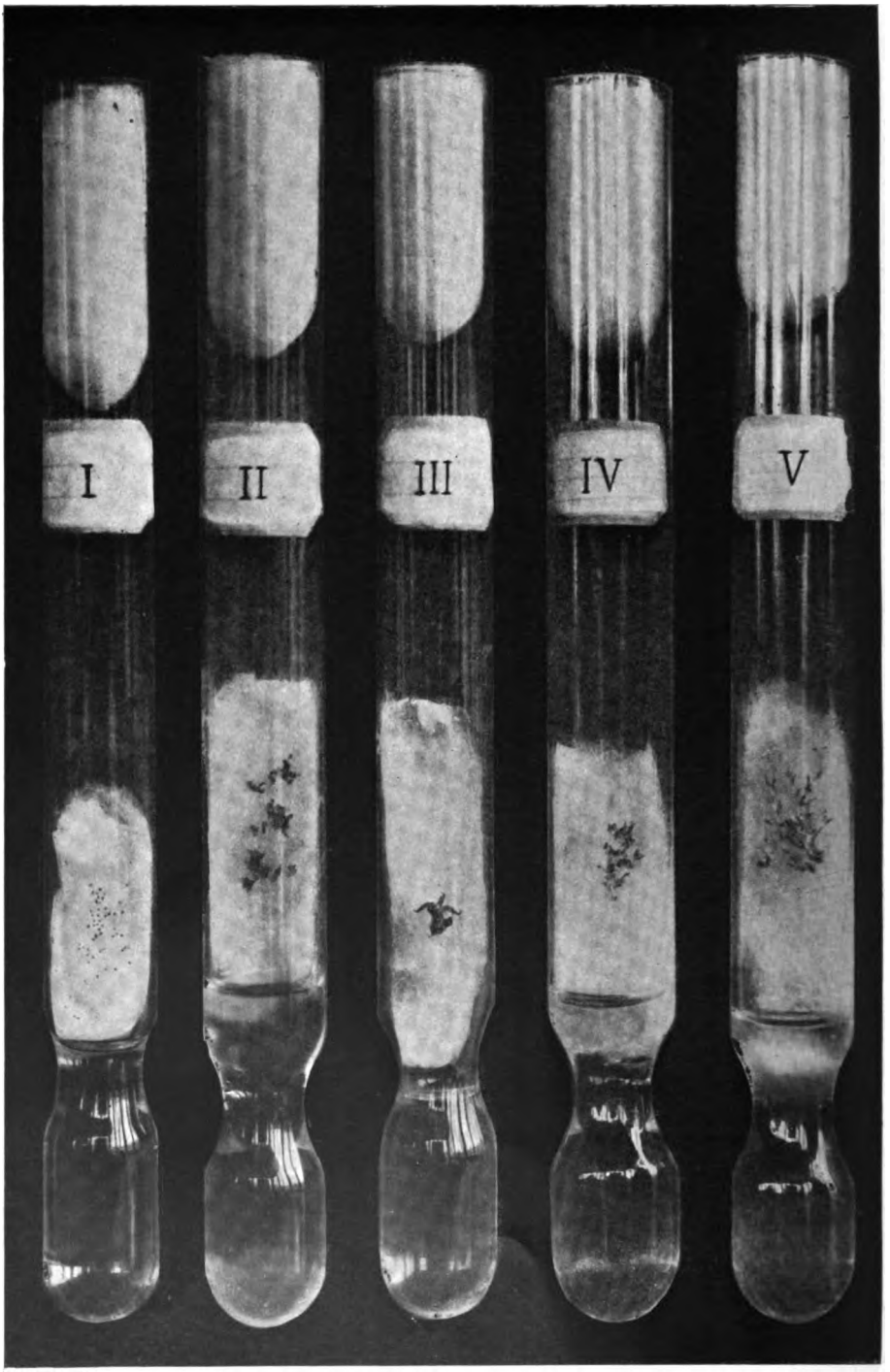
J. Bédélian del. *Imp. Le Bigot Frères.* *J. Poinsot sc.*

Plantago media (15 et 16) ; Bellis perennis (17 et 18) ; Plantago lanceolata (19).

Digitized by Google

Digitized by Google

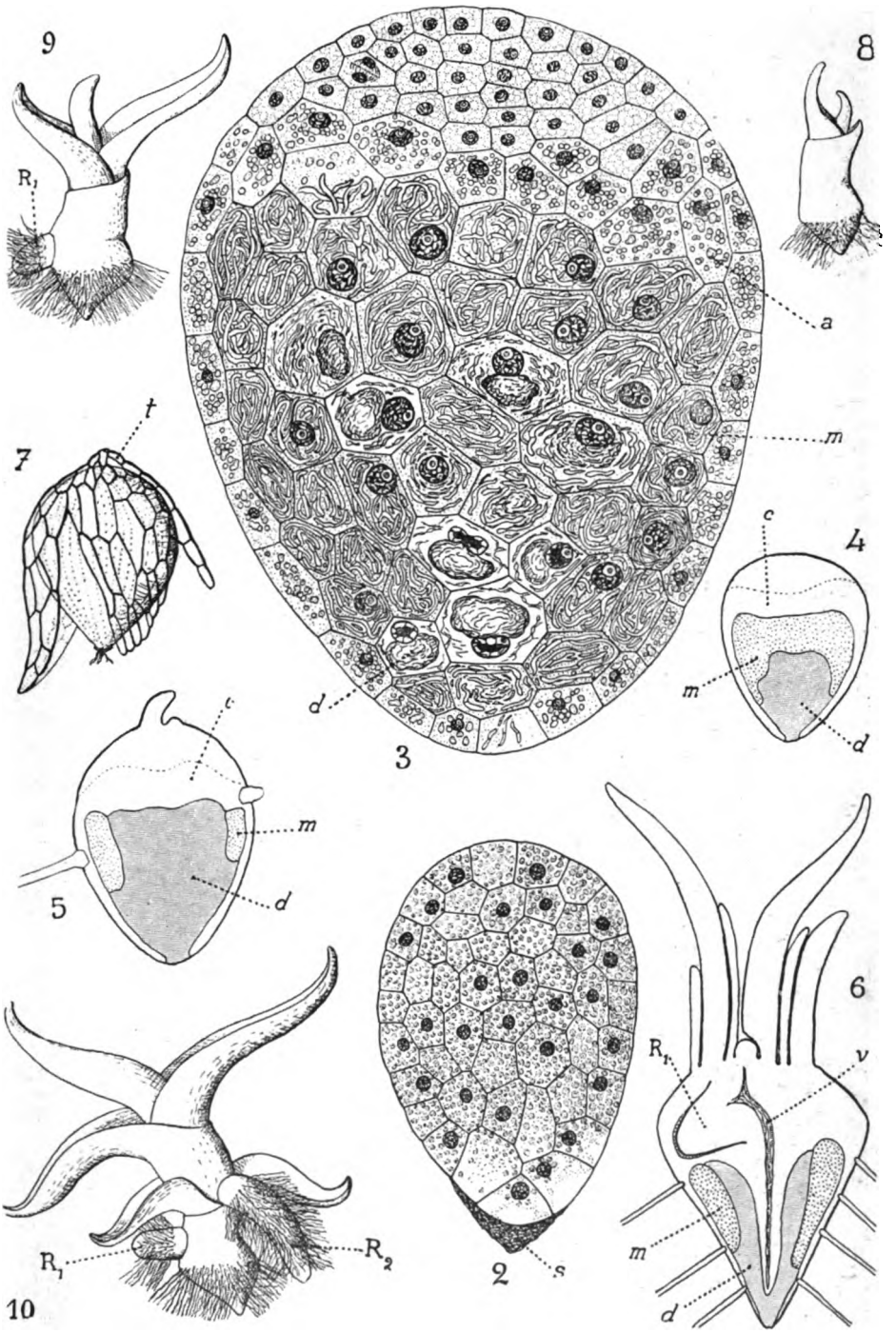
Digitized by Google



N. Bernard phot. *Imp. Le Bigot Frères.* *Bertin sc.*

Cultures d'Orchidées.

Digitized by Google



N. Bernard del. *Imp. Le Bigot Frères.* *Bertin sc.*

Cypripedium.

Digitized by Google

Digitized by Google

GENERAL LIBRARY,
UNIV. OF MICH.
JAN 18 1905

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

DIRIGÉE PAR

M. Gaston BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT,

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA SORBONNE

TOME SEIZIÈME

Livraison du 15 Décembre 1904

N° 192

Entered at the New-York Post Office as Second Class matter.

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
1, RUE DANTE, 1
1904

AVIS. — Ce numéro renferme la couverture du volume de 1904.

Pour ne pas éprouver de retard dans l'envoi de la *Revue*, on est prié de vouloir bien renouveler son abonnement pour 1905 en envoyant la somme de 20 francs (22 fr. 50 pour l'étranger) à M. l'Administrateur de la *Librairie générale de l'Enseignement*, 1, rue Dante, Paris (5e). Dans le cas contraire, l'Éditeur fera présenter une quittance par la poste, le 15 Janvier 1905.

Digitized by Google

LIVRAISON DU 15 DÉCEMBRE 1904

Pages

I. — LA PASSIFLORE PARASITE SUR LES RACINES DU FUSAIN (avec fig. dans le texte), par **M. E. Pée-Laby** 453

II. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES ORCHIDÉES (avec planches et figures dans le texte), par **M. Noël Bernard** (*fin*) 458

III. — REVUE DES TRAVAUX D'ANATOMIE, parus de 1897 à 1902 (avec figures dans le texte), par **M. H. Ricôme** (*suite*). 477

IV. — TABLES DU VOLUME DE 1904 491

Cette livraison renferme sept figures dans le texte.

Pour le mode de publication et les conditions d'abonnement voir à la troisième page de la couverture.

Digitized by Google

MODE DE PUBLICATION & CONDITIONS D'ABONNEMENT

La **Revue générale de Botanique** paraît le 15 de chaque mois et chaque livraison est composée de 32 à 48 pages avec planches et figures dans le texte.

Le prix annuel (payable d'avance) est de :

20 fr. pour Paris, les Départements et l'Algérie.
22 fr. 50 pour l'Étranger.

Aucune livraison n'est vendue séparément.

Adresser les demandes d'abonnements, mandats, etc., à M. l'Administrateur de la LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT, 1, rue Dante, à Paris.

Adresser tout ce qui concerne la rédaction à M. Gaston BONNIER, professeur à la Sorbonne, 15, rue de l'Estrapade, Paris.

Il sera rendu compte dans les revues spéciales *des ouvrages, mémoires ou notes dont un exemplaire aura été adressé au Directeur de la Revue générale de Botanique. De plus l'ouvrage envoyé sera annoncé immédiatement sur la couverture.*

Les auteurs des travaux insérés dans la *Revue générale de Botanique* ont droit gratuitement à vingt-cinq exemplaires en tirage à part.

RÉCENTES PUBLICATIONS BOTANIQUES

ZACHARIAS : *Uber den mangelhaften Ertrag der Vierländer Erdbeeren.* Hambourg, 1903.

J. ERIKSSON : *Uber das vegetative Leben der getreiderostpilze.* — I. *Puccinia glumarum in der heranwachsenden weizenplanze* (von G. Eriksson und G. Tischler). — II. *Puccinia dispersa in der heranwachsenden roggenpflanze.* — III. *Puccinia glumarum in der heranwachsenden gerstenpflanze.* Stockholm, 1904.

GERASSIMOFF : *Zur Physiologie der Zelle.* Moscou, 1904.

L. KLEIN : *Die botanischen Naturdenkmäler der Grossherzogtums Baden und ihre Erhaltung.* Karlsruhe, 1904.

LAVONDE : *Les lichens des environs de Moulins* (Allier). Moulins.

R. MAIRE : *Remarques sur la flore de la Corse.* Tours, 1904.

OFFNER : *Contribution à la géographie botanique du massif du Pelvoux.* Grenoble, 1904.

SCHUMANN : *Praktikum für morphologische und systematische Botanik.* Iena, Fischer, 1904.

VACCARI : *Catalogue raisonné des plantes vasculaires de la vallée d'Aoste.* Aoste, 1904.

Digitized by Google

MAHEU : *Contribution à la flore obscuricole de France.* Paris, 1903.

PARKIN et PEARSON : *The Botany of the Ceylon Patands* (Linnean Society's Journal, vol. XXV).

TRANSEAU : *On the geographic distribution and ecological relations of the bog plant societies of Norlh America.* Chicago, 1903.

G. H. SHULL : *Geographic distribution of Isoetes saccharata.* Chicago, 1903.

COZETTE : *Catalogue des Algues terrestres et d'eau douce du Nord de la France.* Paris, 1904.

ICHIMURA : *On the formation of Anthocyan in the Petaloid Calyx of the Red Japanese Hortense.* Tokyo, 1903.

SAITO : *Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime.* Tokyo, 1904.

— *Ueber das Vorkommen von Saccharomyces anomalus beim Sakebrauen.* Tokyo, 1904.

HAYATA : *Compositae Formosanæ.* Tokyo, 1904,

KANDA : *Studien über die Reitzwirkung einiger Metallsalze auf das Wachstum hokerer Pflanzen.* Tokyo, 1904.

KUYPER : *De perithecium-ontwikkeling van Monascus purpureus Wenk en Monascus Barkeri Dangeard in verband met de phylogenie der Ascomyceten.* Amsterdam, 1904.

M.-T. MASTERS : *A general Wiew of the Genus Pinus* (Linnean Society's. Journal, vol. XXXV).

CLEMENTS : *The Developpement and Structure of Vegetation.* Lincoln. 1904.

O. KUNTZE : *Nomenclaturae botanicae codex brevis maturus.* Stuttgart, 1903.

MASSART : *Comment les plantes vivaces maintiennent leur niveau souterrain.* Bruxelles, 1903.

BRIOSI et FARNETI : *Intorno alla Ruggine bianca dei Limoni* (*Citrus Limonium*). Milan, 1904.

BUSCALIONI et TRAVERSO : *L'Evoluzione morfologica del flore in rapporto colla evoluzione cromatica del perianzio.* Milan 1904.

FITTING : *Weitere Untersuchungen zur Physiologie der Ranken nebst einigen neuen Versuchen über die Reizleitung bei Mimosa.* Leipzig, 1903.

JOHNSTON : *A Revision of the Genus Flaveria* (American Academy of Arts and Sciences. Décember 1903).

KOERNICKE : *Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung.* Berlin, 1904.

— *Uber die Wirkung von Röntgen und Radiumstrahlen auf den planzlichen Organismus.* Berlin, 1904.

R. SCOTT : *On the movements of the Flowers of Sparmannia africana, and their Demonstration by means of the Kinematograph* (Annals of Botany, 1903).

MIYAKE : *Uber das Wachstum des Blütenschaftes von Taraxacum.* Iena, 1904.

FRYE : *The Embryo Sac of Casuarina stricta.* Chicago, 1903.

B.-E. LIVINGSTON : *The rôle of diffusion and osmotic pressure in plants.* Chicago, 1903.

A -B. RENDLE : *The classification of flowering plants.* Vol. I. *Gymnosperms and monocotylèdons.* Cambridge, 1904.

J.-C. WELLIS : *E manual and dictionary of the flowering plants and ferns.* Cambridge, 1904.

A.-P. BLAKESLLE : *Sexual reproduction in the Mucorineae* (Proceeding of the American Academy of Arts and Sciences, 1904).

Alençon — Imp. LE BLOUT frères.

Digitized by Google

Digitized by Google

BOUND IN LIBRARY.
APR 20 1905

Digitized by Google

Digitized by Google